



## Πτυχιακή Εργασία

«Ισοθειοκυανιούχες ενώσεις ως συστατικά των τροφίμων: μια επικαιροποιημένη μελέτη πάνω στους ρόλους και στις βιολογικές τους δράσεις»

*Ονοματεπώνυμο : Γαμβρή Δέσποινα*

ΑΜ: 4337

Επιβλέπων Καθηγητής: Τερζίδης Α. Μιχαήλ

Αλεξάνδρεια Πανεπιστημιούπολη – Σίνδος

*Οκτώβριος, 2020*

# Περιεχόμενα

---

<b>Περίληψη.....</b>	<b>3</b>
<b>Εισαγωγή .....</b>	<b>6</b>
<b>Κεφάλαιο 1 : Πηγές γλυκοσινολικών .....</b>	<b>7</b>
1.1 Οικογένεια Brassicaceae .....	7
1.2 Οικογένεια Moringaceae .....	7
<b>Κεφάλαιο 2 : Γλυκοσινολικά .....</b>	<b>9</b>
2.1 Ταξινόμηση και μοριακή δομή.....	9
2.2 Υδρόλυση γλυκοσινολικών σε φυτά και θηλαστικά .....	9
2.3 Μεταβολισμός γλυκοσινολικών .....	12
2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την συγκέντρωση γλυκοσινολικών και ισοθειοκυανικών .....	13
2.5 Μέθοδοι εντοπισμού μεταβολικών προϊόντων.....	16
<b>Κεφάλαιο 3 : Ισοθειοκυανικά.....</b>	<b>19</b>
3.1 Κατηγορίες .....	19
3.2 Μοριακή Δομή .....	21
3.3 Μεταβολισμός και απορρόφηση.....	22
<b>Κεφάλαιο 4 : Βιοδιαθεσιμότητα .....</b>	<b>23</b>
4.1 Παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα των ισοθειοκυανικών .....	26
4.1.1 Οξεοβασικές συνθήκες .....	26
4.1.2 Θερμική επεξεργασία .....	27
4.1.3 Ενζυμική/ μη ενζυμική υδρόλυση.....	27
4.1.4 Δομή των γλυκοσινολικών .....	27
4.1.5 Συνθήκες μετά την συγκομιδή των λαχανικών .....	28
4.2 Μέθοδοι επεξεργασίας σταυρανθών .....	28
4.3 Επίτευξη αύξησης του επιπέδου βιοδιαθεσιμότητας των ισοθειοκυανικών στον ανθρώπινο οργανισμό.....	31
<b>Κεφάλαιο 5 : Βιολογικές Δράσεις .....</b>	<b>32</b>
5.1 Αντιοξειδωτική δράση.....	32
5.2 Αντικαρκινική δράση .....	34
5.2.1 Μεταβολισμός ξενοβιοτικών .....	35

5.2.2 Keap1–Nrf2–ARE.....	36
5.3 Αντιφλεγμονώδη και ανοσορυθμιστική δράση .....	39
5.4 Αντιμικροβιακή δράση .....	40
<b>Κεφάλαιο 6 : Ο ρόλος των ισοθειοκυανικών στην υγεία του ανθρώπου .....</b>	<b>42</b>
6.1 Καρκίνος .....	42
6.2 Διαβήτης .....	43
6.3 Νευρολογικές παθήσεις.....	44
6.4 Δερματικές Ανωμαλίες .....	45
6.5 Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού .....	46
<b>Κεφάλαιο 7 : Άλλες εφαρμογές .....</b>	<b>47</b>
7.1 Φυσικά συντηρητικά.....	47
7.2 Οργανικά παρασιτοκτόνα σε καλλιέργειες.....	49
<b>Κεφάλαιο 8: Αλληλεπίδραση ισοθειοκυανικών με άλλες ουσίες .....</b>	<b>51</b>
<b>Κεφάλαιο 9 : Ασφάλεια κατανάλωσης .....</b>	<b>53</b>
9.1 Ασφάλεια κατανάλωσης σταυρανθών λαχανικών .....	53
9.1.1 Γενοτοξικότητα .....	53
9.1.2 Βρογχοκηλογόνες ουσίες.....	53
9.1.3 Τοξικότητα στο καρδιαγγειακό.....	54
9.1.4 Βλάβες σε συκώτι και νεφρούς.....	54
9.2 Ασφάλεια κατανάλωσης ισοθειοκυανικών .....	54
9.2.1 Ισοθειοκυανικά Αλλύλιο και Φαινύλιο (AITC , PEITC).....	54
9.2.2 Ισοθειοκυανικό Μοριγκίνη (MGN) .....	55
9.2.3 Ισοθειοκυανικό Βενζύλιο (BITC) .....	55
9.2.4 4-methylthio-3-butenyl ισοθειοκυανικό (MTBITC).....	56
9.2.5 <i>In vivo</i> και <i>in vitro</i> πειράματα γενοτοξικότητας .....	56
9.2.6 Σουλφοραφάνη (SFN) .....	57
<b>Συμπεράσματα .....</b>	<b>58</b>
<b>Βιβλιογραφία .....</b>	<b>60</b>

## Περίληψη

---

Τα τελευταία χρόνια έχει αναπτυχθεί έντονο ενδιαφέρον σχετικά με μια κατηγορία φυτοχημικών, τα γλυκοσινολικά (glucosinolates ή GLS) και τα προϊόντα υδρόλυσης αυτών που ονομάζονται ισοθειοκυανιούχες ενώσεις ή ισοθειοκυανικά (isothiocyanates ή ITCs). Οι έρευνες πάνω στα ισοθειοκυανικά παρουσιάζουν πολύ ενδιαφέροντα αποτελέσματα αναφορικά με τις βιολογικές τους δράσεις και το ρόλο που διαδραματίζουν στην υγεία αλλά και στη βελτίωση της ζωής του ανθρώπου σε διάφορες πτυχές της. Έχει βρεθεί ότι εμφανίζουν ισχυρή αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, ανοσορυθμιστική και αντικαρκινική δράση, αλλά δεν περιορίζονται μόνο σε αυτά τα χαρακτηριστικά καθώς χρησιμοποιούνται ως φυσικά συντηρητικά λόγω των αντιμικροβιακών τους ιδιοτήτων, ως οργανικά παρασιτοκτόνα σε καλλιέργειες και εμφανίζουν επίσης πλήθος άλλων δράσεων. Η παρούσα εργασία αποτελεί μια μελέτη ανασκόπησης των ερευνών που πραγματοποιήθηκαν γύρω από τα ισοθειοκυανικά κυρίως την τελευταία δεκαετία και εστιάζει στους μηχανισμούς δράσης και τις θεραπευτικές ιδιότητες των ενώσεων αυτών, αλλά και πώς μπορούν να αξιοποιηθούν καλύτερα στο μέλλον για την αποκόμιση του μέγιστου δυνατού οφέλους.

## **ABSTRACT**

In recent years, there is a topic which caught the attention of the scientific community and it addresses in a group of phytochemicals called glucosinolates (GLS) as well as one of their hydrolysis products called isothiocyanates (ITCs). There have been several studies conducted in this field reporting important results, related to the biological activities and the main role they represent in human health and also in developing different areas of the human life in general. It is known that ITCs demonstrate strong antioxidant, anti-inflammatory, immunomodulatory and anticancer activities, while some other listed uses are their ability to act as organic pesticides and as natural preservatives due to the antimicrobial properties. In this review, we gathered some interesting data of the studies published mainly the last decade. Furthermore, we focused on the mechanisms of action and the healing properties of these compounds, but also how we can use them in the best possible way in the future, in order to benefit from their maximum potential.

### Συντομογραφίες:

<b>GLS</b>	<b>Glucosinolates</b>
<b>ITCs</b>	Isothiocyanates
<b>ESP</b>	Epithiospecifier protein
<b>PEITC</b>	Phenylethyl-isothiocyanate
<b>BITC</b>	Benzyl-isothiocyanate
<b>AITC</b>	Allyl- isothiocyanate
<b>MITC</b>	Methyl- isothiocyanate
<b>ERN</b>	Erucin- isothiocyanate
<b>IBN</b>	Iberin- isothiocyanate
<b>MGN</b>	Morigin-isothiocyanate

**Λέξεις-κλειδιά:** ισοθειοκυανικά, γλυκοσινολικά, βιοδιαθεσιμότητα, μεταβολισμός, αντικαρκινικές, αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές δράσεις.

## Εισαγωγή

---

Τα τελευταία χρόνια, ολοένα και αυξάνεται το ποσοστό εμφάνισης διάφορων μη μεταδιδόμενων νοσημάτων (noncommunicable diseases-NCDs), όπως είναι ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές και αναπνευστικές παθήσεις, ο διαβήτης, διάφορες νευρολογικές παθήσεις και άλλες οξείες και χρόνιες ασθένειες. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), αυτές οι ασθένειες σκοτώνουν γύρω στα 41 εκατομμύρια ανθρώπους ετησίως, ενώ το 71% των θανάτων παγκοσμίως οφείλονται σε αυτές. Οι κύριοι παράγοντες που οδηγούν στην εμφάνιση όλων αυτών των νοσημάτων είναι ο σημερινός τρόπος ζωής των αστικών κοινωνιών που χαρακτηρίζονται από ελάχιστη σωματική δραστηριότητα, κακές διατροφικές συνήθειες, κάπνισμα, αλκοόλ και στρες.<sup>1</sup> Είναι λοιπόν επιτακτικής σημασίας η εύρεση και διαμόρφωση βελτιωμένων και αποδοτικότερων μεθόδων θεραπείας. Οι ερευνητές στο χώρο της υγείας προσπαθούν να βρουν πολλές φορές κάποιες πιο φυσικές προσεγγίσεις, που θα ελαχιστοποιήσουν ίσως τις παρενέργειες των θεραπειών που εφαρμόζονται αλλά και θα αυξήσουν την απόδοση της θεραπείας, προσδίδοντας σταδιακά μικρότερα ποσοστά θανάτων. Έτσι, μεταξύ άλλων γίνεται λόγος για κάποιες βιοενεργές ενώσεις που βρίσκονται κυρίως σε φυτά της οικογένειας Brassica, όπως είναι το μπρόκολο, το κουνουπίδι και διάφορα είδη λάχανων και ονομάζονται ισοθειοκυανιούχες. Παρακάτω, θα αναλυθούν οι μηχανισμοί δράσης αυτών των ουσιών, μέσα από τους οποίους θα κατανοήσουμε καλύτερα τις θεραπευτικές τους ιδιότητες, αλλά και τους ευρύτερους ρόλους τους στην ζωή του ανθρώπου. Θα μπορούσαν λοιπόν αυτές οι ενώσεις να δώσουν την απαιτούμενη ώθηση για την βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητας των θεραπειών; είναι εφικτή η παραλαβή τους σε επαρκείς ποσότητες μέσω της κατανάλωσης των ενώσεων αυτών για να αξιοποιηθούν στον μέγιστο βαθμό τα οφέλη της δράσης τους; και ποιοι

κίνδυνοι μπορεί να ελλοχεύουν πίσω από την κατανάλωση τους είναι μερικά από τα εύλογα ερωτήματα που χρειάζεται να απαντηθούν.

## **Κεφάλαιο 1 : Πηγές γλυκοσινολικών**

---

Τα γλυκοσινολικά ( $\beta$ -thioglucoside-*N*-hydroxysulfates) είναι ανιονικές ενώσεις πλούσιες σε θείο, ενώ παράγονται από σάκχαρα και αμινοξέα. Είναι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών και αποτελούν τις πρόδρομες ενώσεις των ισοθειοκυανικών.<sup>2</sup> Εντοπίζονται σε φυτά της τάξης των Brassicales (κοινώς γνωστά και ως “Mustards and allies”) και από κατώτερη κατηγορία ταξινόμησης κυρίως στις οικογένειες Moringaceae και Brassicaceae.<sup>3</sup>

### **1.1 Οικογένεια Brassicaceae**

Τα λαχανικά της οικογένειας Brassicaceae ή Cruciferae είναι γνωστά και ως σταυρανθή λόγω του σχήματος που δημιουργούν τα τέσσερα πέταλα τους. Στην οικογένεια αυτή κατατάσσονται πάνω από 3000 είδη.<sup>4</sup> Τα πιο συνήθη λαχανικά που καταναλώνονται από την οικογένεια Brassicaceae είναι το μπρόκολο, τα λαχανάκια Βρυξελλών, το λάχανο, η κάπαρη, το κουνουπίδι, το ραπανάκι, το γογγύλι, το κάρδαμο και το wasabi.<sup>5</sup>

### **1.2 Οικογένεια Moringaceae**

Τα πιο συνήθη είδη της οικογένειας Moringaceae είναι το **M. oleifera** που χιλιάδες χρόνια πριν εντοπίστηκε στις βορειοδυτικές πεδιάδες ιθαγενών ινδιάνων, αλλά και στην Ινδία και το **M. Stenopetala**, το οποίο εντοπίζεται σε Κένυα και Αιθιοπία.<sup>6</sup>



## Πίνακας 1. Λαχανικά της οικογένειας Brassicaceae

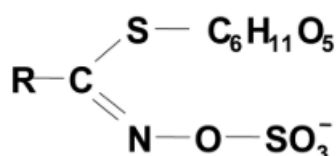
Γένος – είδος- υποείδος Φυτού	Λαχανικά (αγγλική γλώσσα)	Λαχανικά (ελληνική γλώσσα)
<i>Armoracia lapathifolia</i>	Horseradish	Χρένο ή αρμοράκια
<i>Brassica camoestis</i> ( <i>rapifera</i> )	Turnip	Γογγύλι
<i>Brassica camoestris</i> ( <i>oleifera</i> )	Rape	Άγριο γογγύλι
<i>Brassica napus</i> ( <i>napobrassica</i> )	Swede or Rutabaga	Γουλί
<i>Brassica oleracea</i> ( <i>capitata</i> )	White/red cabbage	Λευκό/κόκκινο λάχανο
<i>Brassica oleracea</i> ( <i>caulifrora</i> )	Cauliflower	Κουνουπίδι
<i>Brassica oleracea</i> ( <i>gemmifera</i> )	Brussel sprouts	Λαχανάκια βρυξελλών
<i>Brassica oleracea</i> ( <i>laciniata</i> )	Curly kale	Λαχανίδα
<i>Brassica oleracea</i> ( <i>sabauda</i> )	Savoy cabbage	Λάχανο Σαβόι
<i>Brassica oleracea</i> ( <i>cymosa</i> )	Sprouting broccoli	Μπρόκολο
<i>Brassica pekinensis</i>	Chinese white cabbage	Κινέζικο λάχανο
<i>Lepidium sativum</i>	Garden cress	Κάρδαμο
<i>Nasturtium officinale</i>	Watercress	Κάρδαμο
<i>Raphanus sativus</i>	Radish	Ρεπάνι ή ραπάνι
<i>Sinapis alba</i>	White mustard	Λευκό σινάπι

## Κεφάλαιο 2 : Γλυκοσινολικά

---

### 2.1 Ταξινόμηση και μοριακή δομή

Τα γλυκοσινολικά, που εντοπίζονται στις προαναφερόμενες οικογένειες φυτών, χαρακτηρίζονται ως δευτερογενείς μεταβολίτες, αφού η παρουσία τους δεν είναι απαραίτητη για να καλυφθούν οι αναπτυξιακές ανάγκες του φυτού. Όσον αφορά την **δομή των γλυκοσινολικών**, είναι ανιονικά και αποτελούνται από  $\beta$ -thioglucoside-*N*-hydrosulfate με μία πλευρική αλυσίδα R και ένα θείο συνδεδεμένο με  $\beta$ -D glucopyranoside, ενώ διαφοροποιούνται ανάλογα με τον τύπο του αμινοξέος από το οποίο προέρχονται και η διαφοροποίηση αυτή είναι εμφανής στην πλευρική αλυσίδα R (Εικόνα 1). Έτσι, τα γλυκοσινολικά κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες με βάση τον τύπο του αμινοξέος και ονομάζονται **αλειφατικά**, **ινδολικά** και **αρωματικά**, όταν τα πρόδρομα αμινοξέα είναι μεθειονίνη, τρυπτοφάνη ή ένα από τα αρωματικά αμινοξέα τυροσίνη και τρυπτοφάνη, αντίστοιχα.<sup>4,7</sup> Αξιοσημείωτο είναι ότι έχουν καταγραφεί πάνω από 200 πλευρικές αλυσίδες και αναφέρονται στη βιβλιογραφία.<sup>8</sup>



**Εικόνα 1** Γενικός τύπος γλυκοσινολικών

### 2.2 Υδρόλυση γλυκοσινολικών σε φυτά και θηλαστικά

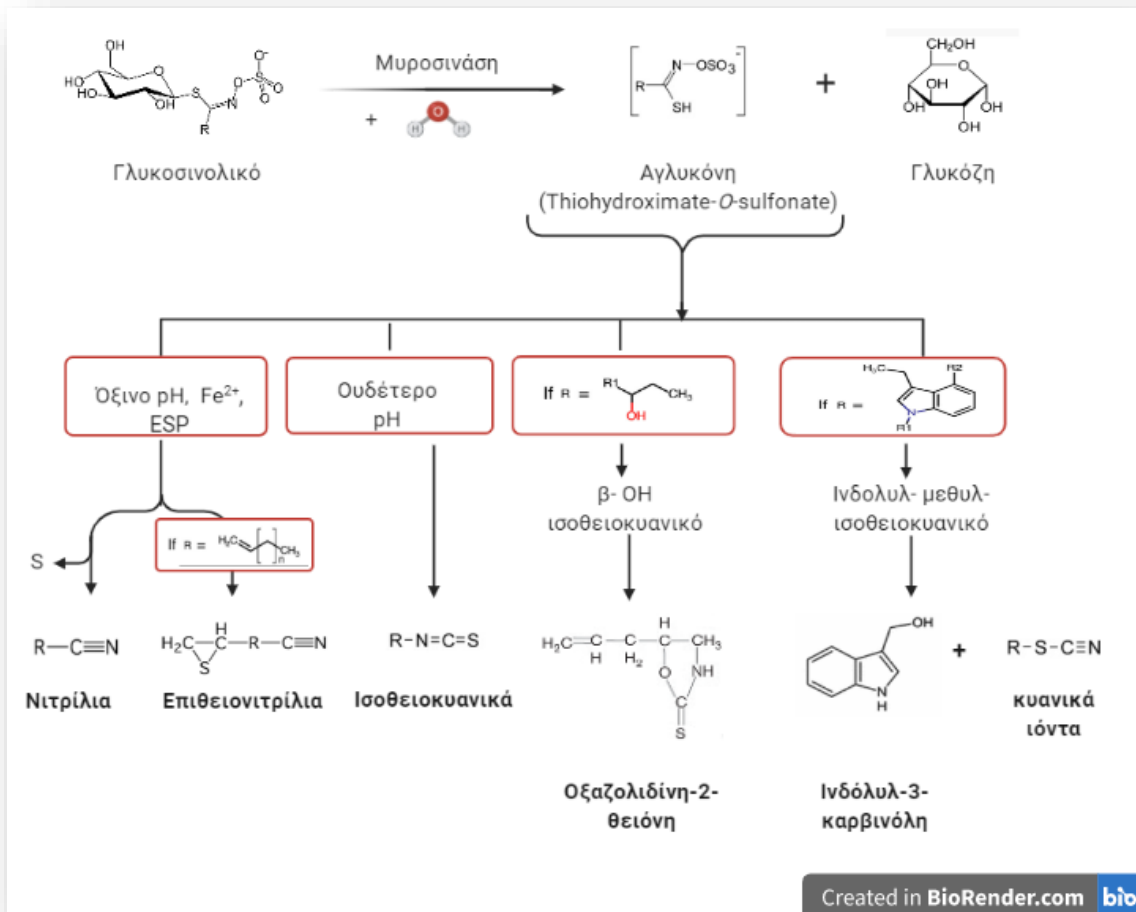
Η υδρόλυση των γλυκοσινολικών ξεκινάει με την παραγωγή μιας ασταθούς αγλυκόνης που λέγεται thiohydroximate-*O*-sulfonate και μιας

γλυκόζης. Από την αγλυκόνη απελευθερώνεται ένα ανιόν θειικού άλατος και στη συνέχεια ένα πλήθος μεταβολιτών, των οποίων η ποικιλότητα οφείλεται στην πλευρική αλυσίδα R των γλυκοσινολικών και στις φυσικοχημικές ιδιότητες που θα επικρατήσουν στο ενδιάμεσο προϊόν (π.χ. pH, θερμοκρασία, κ.α.). Οι μεταβολίτες αυτοί συμπεριλαμβάνουν τα νιτρίλια (nitriles), επιθειονιτρίλια (epithionitriles), ισοθειοκυανικά (isothiocyanates), κυανικά ιόντα (NCO<sup>-</sup>) (thiocyanates), οξαζολιδίνη-2-θειόνη (oxazolidine-2-thiones) και ινδολυλ-3-καρβινόλη (indole-3-carbinol). Στα προϊόντα υδρόλυσης οφείλεται και το χαρακτηριστικό άρωμα και πικάντικη γεύση των σταυρανθών.<sup>5</sup> Η υδρόλυση των γλυκοσινολικών πραγματοποιείται με τη μεσολάβηση ενός ενζύμου που συναντάται στα φυτικά κύτταρα και ονομάζεται β-θειογλουκοσιδάση ή αλλιώς **μυροσινάση** (Σχήμα 2). Σε φυσιολογικές συνθήκες, τα γλυκοσινολικά βρίσκονται χωριστά από το ένζυμο είτε σε διαφορετικά κύτταρα είτε σε διαφορετικό διάστημα του ίδιου του κυττάρου, το οποίο εξαρτάται από το είδος του φυτού.<sup>9</sup> Τα κύτταρα στα οποία είναι αποθηκευμένη η μυροσινάση καλούνται «myrosin cells» και ο λόγος που βρίσκεται σε ξεχωριστά κύτταρα είναι η αποφυγή αυτοκαταστροφής του ίδιου του φυτικού κυττάρου.<sup>2</sup> Με την καταστροφή του φυτικού ιστού (μάσηση, θερμική επεξεργασία, επίθεση εντόμων), το ένζυμο πλέον έρχεται σε επαφή με τα γλυκοσινολικά και πυροδοτείται αμέσως η διαδικασία υδρόλυσης, γνωστή και ως “the mustard oil bomb”.<sup>9,10</sup>

Σε συνθήκες όξινου pH, με την παρουσία δισθενούς κατιόντος σιδήρου και μιας πρωτεΐνης του φυτικού κυττάρου που ονομάζεται epithiospecifier protein (ESP), οδηγεί στο σχηματισμό νιτριλίων.<sup>8</sup> Τα νιτρίλια δεν είναι βιοενεργά και επιπρόσθετα η παρουσία ESP στο μπρόκολο μπορεί να αποδώσει 9 φορές μεγαλύτερη συγκέντρωση νιτριλίων απ’ ότι ισοθειοκυανικών.<sup>11</sup>

Η ύπαρξη ακορεστότητας στην πλευρική αλυσίδα των γλυκοσινολικών μας οδηγεί στον σχηματισμό των **επιθειονιτριλίων**, μια ιδιαίτερη κατηγορία νιτριλίων.<sup>8</sup>

**Εικόνα 2. Υδρόλυση γλυκοσινολικών μέσω μυροσινάσης και τα προϊόντα της.**



Αντιθέτως, σε συνθήκες με ουδέτερο pH επέρχεται η δημιουργία των **ισοθειοκυανικών** ενώσεων (ITCs).

Εάν υπάρχει β-υδροξύλιο στην πλευρική αλυσίδα του γλυκοσινολικού τότε η υδρόλυση καταλήγει σε **οξαζολιδίνη-2-θειόνη**.

Τέλος, πολλές φορές από την υδρόλυση των γλυκοσινολικών δημιουργείται ένα ενδιάμεσο και ασταθές προϊόν (indolyl-methyl-

isothiocyanate), από το οποίο προκύπτουν ως προϊόντα **θειοκυανικό ιόν** και μία **ινδόλυλ-3-καρβινόλη**.<sup>8</sup>

Η προαναφερόμενη διαδικασία πραγματοποιείται στα φυτικά κύτταρα και θεωρείται ένας αμυντικός μηχανισμός του φυτού ενάντια στους φυσικούς εχθρούς του. Παρ' όλα αυτά η μετατροπή των γλυκοσινολικών σε ισοθειοκυανικά μπορεί να πραγματοποιηθεί και σε ιστούς θηλαστικών. Τα θηλαστικά δεν διαθέτουν το ένζυμο μυροσινάση ώστε να καταλυθεί η αντίδραση, αλλά μπορεί να διαδραματιστεί και σε αυτά με τη βοήθεια του μικροβιώματός τους, που λαμβάνει χώρα στο γαστρεντερικό σωλήνα.<sup>5</sup>

## **2.3 Μεταβολισμός γλυκοσινολικών**

Στην περίπτωση κατανάλωσης σταυρανθών λαχανικών, στα οποία δεν επήλθε έντονη θερμική ή μηχανική επεξεργασία, θα ξεκινήσει η διαδικασία της ενζυμικής υδρόλυσης των γλυκοσινολικών τη στιγμή που θα υποστεί καταστροφή ο φυτικός ιστός (μάσηση, οξέα στομάχου) και θα έρθουν σε επαφή με το ένζυμο μυροσινάση. Η απορρόφηση των προϊόντων της υδρόλυσης θα πραγματοποιηθεί στα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου.

Σε εναλλακτική περίπτωση, όπου τα λαχανικά θα έχουν υποστεί έντονη θερμική ή μηχανική επεξεργασία, καταστέλλεται η λειτουργία της μυροσινάσης και ο μεταβολισμός των γλυκοσινολικών στο ανθρώπινο σώμα ακολουθεί διαφορετική πορεία. Μέρος των άθικτων γλυκοσινολικών απορροφάται μερικώς στο στομάχι,<sup>8</sup> ενώ σε *in vivo* μελέτη, η παρουσία αδιάσπαστων γλυκοσινολικών στα ούρα ανερχόταν σε ποσοστό έως και 5 %.<sup>12</sup> Το υπόλοιπο μέρος μεταβαίνει στο παχύ έντερο, όπου υδρολύεται από τη βακτηριακή μυροσινάση του ανθρώπινου μικροβιώματος και τα προϊόντα της διάσπασης απορροφώνται και αξιοποιούνται από τον οργανισμό ή αποβάλλονται.<sup>8,13</sup> Στο **Κεφάλαιο 3** περιγράφεται και ο μεταβολισμός των προϊόντων υδρόλυσης και κυρίως των ισοθειοκυανικών.

Ακόμη στο ανθρώπινο μικροβίωμα ανήκουν στελέχη Bifidobacterium, τα οποία σύμφωνα με μελέτες *in vitro* φαίνεται ότι μπορούν να μεταβολίσουν τα γλυκοσινολικά σε νιτρίλια.<sup>14</sup>

## **2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την συγκέντρωση γλυκοσινολικών και ισοθειοκυανικών**

Η συγκέντρωση των γλυκοσινολικών επηρεάζεται από πλήθος παραγόντων, αλλά είναι και αυτή που θα καθορίσει και τη συγκέντρωση των βιοενεργών προϊόντων τους, των ισοθειοκυανικών. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις GLS θα αποδώσουν κατά την διάσπαση τους και μεγαλύτερες ποσότητες ITCs και κατ' επέκταση θα επέλθει μεγαλύτερη δραστηριότητα. Βέβαια, η συγκέντρωση των ITCs επηρεάζεται από πλήθος άλλων παραγόντων που μεσολαβούν και μπορούν να επιδράσουν θετικά ή αρνητικά στην συγκέντρωσή τους, όπως είναι το pH, η παρουσία διαφόρων ιόντων και η δραστηριότητα της μυροσινάσης και της ESP πρωτεΐνης. Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα ο σχηματισμός νιτρίλιων ευνοείται με την παρουσία της ESP και δισθενούς κατιόντος σιδήρου σε χαμηλό pH, ενώ σε ουδέτερο και αλκαλικό pH αδρανοποιείται η ESP και οδηγούμαστε στο σχηματισμό μεγαλύτερης συγκέντρωσης ITCs.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την συγκέντρωση των γλυκοσινολικών είναι οι εξής :

### **1. Το είδος του φυτού → γενετική προδιάθεση, φυσιολογία**

- ▶ Μπορούν να εντοπιστούν μέχρι 15 διαφορετικά γλυκοσινολικά σε ένα είδος φυτού, από τα οποία τα 4 βρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις.
- ▶ Το κάθε είδος έχει το δικό του ξεχωριστό συνδυασμό από GLS καθώς και διαφορετικές συγκεντρώσεις αυτών.<sup>15</sup>

- ▶ Πλέον με τη διασταύρωση φυτών διαφορετικού είδους επιτεύχθηκε η δημιουργία νέων βελτιωμένων ειδών που παράγουν υψηλότερες συγκεντρώσεις GLS συγκριτικά με τα προερχόμενα είδη της διασταύρωσης. Ένα παράδειγμα είναι η διασταύρωση μια συνηθισμένης ποικιλίας με το άγριο είδος *B.villosa*. Η δημιουργία του υβριδίου αυτού είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερες ποσότητες των 3-methylsulphinylpropyl- και 4-methylsulphinylbutyl-γλυκοσινολικών, τα οποία αποτελούν τις πρόδρομες ενώσεις των ιδιαίτερα βιοενεργών ισοθειοκυανικών *iberin* και *SFN*. Παρ' όλα αυτά, το υβρίδιο αυτό εκτός από βελτιωμένες βιολογικές δράσεις για την υγεία του ανθρώπου, ενίσχυσε την ήδη υπάρχουσα και μη επιθυμητή για πολλούς, χαρακτηριστική γεύση των σταυρανθών λαχανικών.<sup>15-18</sup>

## 2. Τα διάφορα μέρη του φυτού → η συγκέντρωση GLS διαφέρει μεταξύ των φυτικών οργάνων

Στην αιθιοπική λαχανίδα (*Ethiopian kale*) βρέθηκε μεγαλύτερη συγκέντρωση στους σπόρους συγκριτικά με τα φύλλα.<sup>15,19</sup>

## 3. Η ηλικία του φυτού → η συγκέντρωση των γλυκοσινολικών σταδιακά μειώνεται καθώς το φυτό περνάει από τα διάφορα στάδια ανάπτυξης<sup>13</sup>

- ▶ Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκαν στο δεύτερο στάδιο ανάπτυξης (42 μέρες μετά την μεταφύτευση), κατά το οποίο η λίπανση του φυτού είναι φτωχή σε θείο και στο τρίτο στάδιο (49 μέρες μετά την μεταφύτευση) κατά το οποίο η λίπανση του φυτού είναι πλούσια σε θείο. Μετά το τρίτο στάδιο, οι συγκεντρώσεις των GLS φθίνουν μέχρι το στάδιο υπερωρίμανσης του φυτού.<sup>15,20</sup>

#### 4. Περιβαλλοντικοί παράγοντες → έδαφος, κλίμα (θερμοκρασία), λίπασμα, ακτινοβολίες, απόθεμα σε θρεπτικά συστατικά και νερό

► **α. θερμοκρασία.** Στα φύλλα του είδους *B. Oleracea*, παρατηρήθηκε αύξηση 44 % στο συνολικό περιεχόμενο των GLS, 45% στα αλειφατικά GLS σε θερμοκρασία 12 °C, 114% και 125 % αντίστοιχα στους 32 °C όταν συγκρίθηκαν με θερμοκρασία 22 °C και σε συνεχή έκθεση σε φως.<sup>21</sup> Συμπεραίνουμε έτσι, ότι σε συγκεκριμένο φάσμα θερμοκρασιών εμφανίζονται οι μεγαλύτερες ποσότητες γλυκοσινολικών.

► **β. λίπασμα.** Το λίπασμα που παρέχεται στα φυτά και περιέχει θείο (S), άζωτο (N) και σελήνιο (Se) μπορεί να επηρεάσει σημαντικά το περιεχόμενό τους σε GLS.

Τα δεδομένα δείχνουν πως με την χορήγηση θείου αυξάνεται το συνολικό περιεχόμενο GLS στο μπρόκολο, αλλά κυρίως στη γλυκοραφανίνη (glucoraphanin), η οποία είναι ένα αλειφατικό GL και προέρχεται από το αμινοξύ μεθειονίνη που περιέχει θείο που είναι απαραίτητο για την βιοσύνθεσή της.<sup>22</sup>

Από την άλλη, με την χορήγηση αζώτου τα αλειφατικά GLS glucoraphanin και glucobrassicin παρουσίασαν μείωση 70% συγκριτικά με τα φυτά που δεν δέχτηκαν το συγκεκριμένο λίπασμα.<sup>22</sup>

Τα ινδολικά GLS ευνοήθηκαν με υψηλές συγκεντρώσεις αζώτου και θείου στο λίπασμα.

Τέλος, το Se έδειξε ότι μειώνει την παραγωγή γλυκοσινολικών.<sup>15,23,24</sup>

► **γ. νερό.** Το νερό κατά βάση έδειξε να αυξάνει την ποσότητα των GLS, παρ' όλα αυτά σε κάποιες περιπτώσεις υπήρξε μείωση στην ποσότητά τους, το οποίο πιθανόν να οφείλεται και σε



άλλες περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως το περιεχόμενο σε θείο.<sup>15</sup>

## **5. Επεξεργασία λαχανικών**

- ▶ Η επεξεργασία και προετοιμασία των λαχανικών (π.χ. μαγείρεμα, τεμάχισμα, βρασμός κ.α.) μπορεί να διαφοροποιήσει σε μεγάλο βαθμό την ποσότητα των GLS. Συγκεκριμένα, επέρχεται μείωση καθώς ξεκινάει η διαδικασία υδρόλυσης έπειτα από ρήξη του φυτικού ιστού και αύξηση των προϊόντων της υδρόλυσης. Αλλά και από άλλες διαδικασίες όπως η διήθηση των GLS στο νερό λόγω κυτταρικής λύσης και η θερμική διάσπαση.<sup>15</sup>

## **6. Συνθήκες αποθήκευσης μετά την συγκομιδή**

- ▶ Μετά την συγκομιδή απαιτείται συγκεκριμένος χειρισμός ώστε να διατηρηθούν στα λαχανικά όσο το δυνατόν περισσότερο. Σε γενικές γραμμές, μετά την συγκομιδή ξεκινάει σταδιακά η πτώση στα επίπεδα των γλυκοσινολικών, ενώ με την θερμοκρασία περιβάλλοντος (20°C) παρατηρείται μεγαλύτερη μείωση των επιπέδων από την θερμοκρασία ψύξης (4°C).<sup>25</sup> Παρ' όλα αυτά τα ινδολικά γλυκοσινολικά παρουσίασαν σταδιακή αύξηση σε 9 μέρες αποθήκευσης και στους 10 °C.<sup>15,26</sup>

## **2.5 Μέθοδοι εντοπισμού μεταβολικών προϊόντων**

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τον εντοπισμό των γλυκοσινολικών και των μεταβολικών τους προϊόντων.

## 1. **Cyclocondensation**

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό των γλυκοσινολικών και ισοθειοκυανικών στα ούρα και το πλάσμα, αλλά δεν μας δίνει την δυνατότητα της επιμέρους ταυτοποίησης των ενώσεων. Είναι μια φασματοσκοπική μέθοδος που στηρίζεται στην αντίδραση των ισοθειοκυανικών με dithiol-1,2-benzenedithiol, αποδίδοντας ως προϊόν την 3-benzodithiole-2-thione.<sup>11,27,28</sup> Επίσης, η μέθοδος μπορεί να αναγνωρίσει διθειοκαρβαμιδικά και ενώσεις θειοκαρβονυλίου,<sup>28</sup> τα οποία αν περιέχονται στο εξεταζόμενο δείγμα, θα δώσουν σαν αποτέλεσμα μια υπερεκτιμημένη τιμή ως τιμή συγκέντρωσης των γλυκοσινολικών και των προϊόντων τους.<sup>11,29</sup>

## 2. **Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης [High-performance liquid chromatography (HPLC)]**

Υπάρχουν διάφορες τεχνικές που χρησιμοποιούν την υγρή χρωματογραφία, αφού χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με διάφορους ανιχνευτές όπως είναι οι ανιχνευτές υπεριώδους (HPLC-UV) και ο φασματογράφος μάζας με ιονισμό ηλεκτροψεκασμού (electrospray ionization– tandem mass spectrometry).<sup>11,30</sup>

Μια άλλη μέθοδος HPLC που συνδυάζεται με ανιχνευτή πλήρους σάρωσης με συστοιχία φωτοδιόδων (Diode Array Detector, DAD) και την χρήση ενός μεθυλεστέρα, χαρακτηρίστηκε από αξιοπιστία και ευαισθησία. Η μέθοδος αυτή έχει ως σκοπό τον εντοπισμό των γλυκοσινολικών και των προϊόντων τους και σε άλλα βιολογικά προϊόντα του οργανισμού εκτός από τα ούρα και το πλάσμα, στα οποία περιορίζονται οι περισσότερες μέθοδοι ανάλυσης. Συγκεκριμένα, με τη μέθοδο αυτή, τα ηλεκτροφιλικά ITCs αντιδρούν με τον πυρινόφιλο εστέρα N-(tert-butoxycarbonyl)-L-

cysteine methyl ester (N-tBOC-Cys-ME) και δίνουν ως προϊόν έναν διθειοκαρβαμιδικό εστέρα, ο οποίος μπορεί να διαχωριστεί και να εντοπιστεί με την μέθοδο HPLC-diode array detection (DAD). Πέραν του πλάσματος και των ούρων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί δείγμα κοπράνων και περιεχόμενο του εντέρου. Με αυτόν τον τρόπο μπορούμε να έχουμε μια καλύτερη εικόνα του μεταβολισμού των γλυκοσινολικών στο σώμα του ανθρώπου.(Budnowski et al., 2013)

Τέλος, μέθοδοι με χρήση υγρής χρωματογραφίας συνδυαζόμενη με φασματογράφο μάζας [HPLC coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)] είναι αρκετά διαδεδομένες καθώς παρέχεται σχετική ακρίβεια στις ποσοτικοποιήσεις συγκεκριμένων γλυκοσινολικών και ισοθειοκυανικών (π.χ. γλυκοραφανίνη και σουλφοραφάνη), λόγω της μεγάλης διακριτικής ικανότητας και της ευαισθησίας του οργάνου. Ωστόσο, θεωρείται κοστοβόρος μέθοδος για αναλύσεις ρουτίνας και είναι ο λόγος που τα περισσότερα εργαστήρια δεν έχουν σαν επιλογή τη χρήση της συγκεκριμένης μεθόδου ανάλυσης.<sup>29,31,32</sup>

### **3. Capillary Electrophoresis (CE)**

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης γλυκοσινολικών, την εκτίμηση της ποσότητας των ισοθειοκυανικών ενώσεων που θα παραχθούν αλλά και την μέτρηση της ενζυμικής δραστηριότητας (δράση μυροσινάσης) που αρχίζει να διεξάγεται έπειτα από τραυματισμό του φυτικού ιστού. Αποτελεί μια γρήγορη, οικονομική και απλή μέθοδο ανάλυσης που απαιτεί ελάχιστη ποσότητα δείγματος ενζύμου ή υποστρώματος.<sup>33,34</sup>

#### **4. Αέριος χρωματογραφία (GC) με διαφορετικούς τύπους ανιχνευτών**

Αποτελεί μια μέθοδο κατά την οποία διαχωρίζονται πτητικές οργανικές ενώσεις πριν την ανίχνευση. Ο διαχωρισμός βασίζεται στην διαφορετική δομή των ενώσεων με μια στερεή σταθερή φάση και μια ασταθή αέρια φάση. Οι ενώσεις περνούν μέσα από μια στήλη που θερμαίνεται με αργό ρυθμό. Οι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται συνήθως με την τεχνική αυτή είναι ιονισμού φλόγας (FID) ή μαζών (MS).<sup>35,36</sup>

## **Κεφάλαιο 3 : Ισοθιοκυανικά**

---

### **3.1 Κατηγορίες**

Οι ισοθιοκυανικές ενώσεις αποτελούν, όπως αναφερθήκαμε και νωρίτερα, τα βιοενεργά προϊόντα υδρόλυσης των γλυκοσινολικών και ο λόγος που η μελέτη τους έχει λάβει μεγάλες διαστάσεις, με τα τελευταία χρόνια να εντείνεται το ενδιαφέρον, είναι τα εκπληκτικά αποτελέσματα των ερευνών που παρουσίασαν πλήθος ευεργετικών επιδράσεων. Τα δεδομένα έδειξαν πως οι ενώσεις αυτές μπορούν να αξιοποιηθούν τόσο για την πρόληψη, όσο και για την αντιμετώπιση σοβαρών «πληγμάτων» στην υγεία του ανθρώπου, όπως είναι ο καρκίνος, οι νευρολογικές και δερματικές παθήσεις, τα οποία αποτελούν τα πιο δημοφιλή αυτοάνοσα που μαστίζουν τον κόσμο αυτή τη στιγμή, λαμβάνοντας θα λέγαμε διαστάσεις πανδημίας.

Όπως αναφέρθηκε και στην αρχή, τα γλυκοσινολικά διαφοροποιούνται με βάση τις αλλαγές στην πλευρική τους αλυσίδα έχοντας ως βασικές κατηγορίες τα αρωματικά, ινδολικά και αλειφατικά. Έπειτα, αναλόγως με τις συνθήκες που θα επικρατήσουν, θα παραχθούν τα αντίστοιχα προϊόντα.

Αν οι συνθήκες είναι οι κατάλληλες (π.χ. βασικό pH), θα ευνοηθεί ο σχηματισμός των ισοθιοκυανικών και ανάλογα με το πρόδρομο

γλυκοσινολικό και την προέλευση του θα οδηγηθούμε σε μια συγκεκριμένη ισοθειοκυανική ένωση.

Επιπλέον, εκτός από το φυτικό βασίλειο, οι ισοθειοκυανικές ενώσεις εντοπίστηκαν και σε θαλάσσια σφουγγάρια και ειδικότερα σε μύκητες που συναντάμε σε αυτά, ενώ γίνονται υποθέσεις πως σε αυτήν την περίπτωση τα ITCs δεν έχουν ως πρόδρομες ενώσεις τα γλυκοσινολικά.<sup>37</sup>

Μερικά από τα πιο δραστικά ισοθειοκυανικά έναντι του καρκίνου είναι το phenylethylisothiocyanate (PEITC), το benzylisothiocyanate (BITC), το 3-phenylpropylisothiocyanate, το sulforaphane (SFN) και το allyl isothiocyanate (AITC).<sup>3</sup> Παρακάτω στον Πίνακα 2 δίνονται κάποια επιλεγμένα ισοθειοκυανικά που παρουσιάζουν αξιοσημείωτες δράσεις καθώς και τα γλυκοσινολικά από τα οποία προέρχονται, αλλά και που εντοπίζονται οι ενώσεις αυτές.

**Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά επιλεγμένων ισοθειοκυανικών**

ΠΡΟΔΡΟΜΑ ΓΛΥΚΟΣΙΝΟΛΙΚΑ	ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΑ ΙΣΟΘΕΙΟΚΥΑΝΙΚΑ	ΠΗΓΗ	ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ
<b>Αλειφατικά</b>			
Sinigrin	Allyl isothiocyanate (AITC)	Λαχανίδα, λάχανο, λαχανάκια Βρυξελλών, κουνουπίδι	Αντιβακτηριακές, αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις
Glucoerucin (GER)	Erucin (ER)	Λάχανο , μπρόκολο	Προστασία από νευροεκφυλιστικές ασθένειες
Glucouiberin	Iberin	Λαχανίδα, λάχανο , κουνουπίδι	Αντικαρκινικές
Glucomorigin (GMG)	Morigin (MGN)	Χρένο	Αντικαρκινικές
Glucoraphanin	Sulforaphane (SFN)	Μπρόκολο	Αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις , αντιβακτηριακές

<b>Αρωματικά</b>			
Glucotropaeolin	Benzyl isothiocyanate (BITC)	Λάχανο, σινάπι, κάρδαμο, κουνουπίδι, χρένο, wasabi	Αντικαρκινικές, αντιβακτηριακές
Gluconasturtiin	Phenethyl isothiocyanate (PEITC)	Κάρδαμο, λευκό σινάπι, γογγύλι	Αντιφλεγμονώδεις, αντιβακτηριακές
<b>Ινδολικά</b>			
Glucobrassicin	Indole-3-carbinol	Λαχανίδα, λάχανο, μπρόκολο, λαχανάκια Βρυξελλών, κουνουπίδι	Ήπια αντιβακτηριακή δράση

### 3.2 Μοριακή Δομή

Τα ισοθειοκυανικά είναι βιοενεργές ενώσεις με χημικό τύπο  $R-N=C=S$ , ενώ χαρακτηρίζονται ως πτητικές στην πλειοψηφία τους και η παρατεταμένη έκθεσή τους σε υψηλές θερμοκρασίες και ακτινοβολίες μπορεί να επηρεάσει δυσμενώς την σταθερότητα και επομένως τη βιοδιαθεσιμότητα τους. Τα ισοθειοκυανικά είναι έντονα ηλεκτρονιόφιλες ενώσεις που μπορούν να αντιδράσουν με ενώσεις που περιέχουν θειόλες, υδροξύλια και αμινοομάδες όπως είναι οι πρωτεΐνες, τα πεπτίδια και τα αμινοξέα.<sup>13</sup> Ειδικότερα, στα ITCs πραγματοποιείται πυρηνόφιλη προσβολή από διάφορες χημικές ενώσεις στο κεντρικό άτομο άνθρακα που του λείπει ένα ηλεκτρόνιο, σχηματίζοντας διάφορες ασταθείς ενώσεις. Συγκεκριμένα, η αντίδραση με την ομάδα της θειόλης έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία διθειοκαρβαμιδίων (dithiocarbamates  $R-N(=S)-SR$ ) που είναι ασταθείς ενώσεις. Παρομοίως η πυρινόφιλη προσβολή από αμινοομάδες οδηγεί σε παράγωγα της θειουρίας, ενώ η υδροξυλική ομάδα (hydroxylic group) οδηγεί στη δημιουργία μονοθειοκαρβαμιδικών παραγώγων (monothiocarbamates).<sup>2,38</sup>

### 3.3 Μεταβολισμός και απορρόφηση

Τα ισοθειοκυανικά αντιδρούν με την θειόλη της γλουταθειόνης (GSH, glutathione) που οδηγεί στην απορρόφησή τους στο συκώτι αλλά και στα εντεροκύτταρα. Η αντίδραση καταλύεται από τις glutathione transferases (GST). Επίσης αποβάλλονται από τα ούρα με την μορφή μερκαπτουρικού οξέος (*N*-acetyl-*S*-(*N*-alkylthiocarbamoyl)-*L*-cysteine).<sup>7</sup> Ο μεταβολικός δρόμος των μερκαπτουρικών οξέων ακολουθεί μια αλληλουχία αντιδράσεων μετά τη σύζευξη γλουταθειόνης-ισοθειοκυανικών από τις GST, οι οποίες θα καταλυθούν κατά σειρά από τις glutamyltranspeptidase (g-GT), cysteinylglycinase (CGase), και *N*-acetyltransferase (AT) ώστε να σχηματιστούν τελικά τα μερκαπτουρικά οξέα. Τα ελεύθερα ισοθειοκυανικά και όλα τα συζευγμένα με γλουταθειόνη καλούνται διθειοκαρβαμικές ενώσεις.<sup>5</sup>

Από τη συνολική ποσότητα ισοθειοκυανικών που θα παραληφθούν, το 12-80% θα μετατραπεί σε μερκαπτουρικό οξύ και θα αποβληθεί. Επομένως, η ποσότητα του μερκαπτουρικού οξέος αποδίδει μια εκτίμηση της ποσότητας των ισοθειοκυανικών που καταναλώθηκαν και χρησιμοποιείται ως βιοδείκτης της πρόσληψης και σχηματισμού των ισοθειοκυανικών στον ανθρώπινο οργανισμό.<sup>8</sup> Η μέτρηση των μεταβολιτών των ισοθειοκυανικών μπορεί να πραγματοποιηθεί με δείγμα ούρων ή πλάσματος.<sup>13</sup>

Το σύμπλεγμα ισοθειοκυανικού - γλουταθειόνης διαχωρίζεται στο αίμα λόγω χαμηλής συγκέντρωσης γλουταθειόνης στο πλάσμα και τα πλέον ελεύθερα ισοθειοκυανικά δημιουργούν δεσμούς με την αλβουμίνη ορού που αποτελεί την πιο άφθονη πηγή θειολών. Τόσο τα ελεύθερα όσο και τα συζευγμένα με γλουταθειόνη ισοθειοκυανικά βρίσκονται σε μία ισορροπία ενώ και οι δύο κατηγορίες αντιδρούν εκ νέου με μόρια γλουταθειόνης και πρωτεϊνών που βρίσκονται σε περιφερειακά όργανα και έτσι εισχωρούν στα κύτταρα.<sup>13</sup>

Όσον αφορά τα υπόλοιπα προϊόντα υδρόλυσης, τα νιτρίλια και τα επιθειονιτρίλια μεταβολίζονται και καταλήγουν ως μερκαπτουρικά οξέα στα ούρα όπως και τα ισοθειοκυανικά, ενώ η οξαζολιδίνη-2-θειόνη και τα θειοκυανικά ιόντα αποβάλλονται απευθείας στα ούρα δίχως να μεταβολιστούν περαιτέρω.<sup>8</sup>

## **Κεφάλαιο 4 : Βιοδιαθεσιμότητα**

Η βιοδιαθεσιμότητα των ισοθειοκυανικών εξαρτάται από τις συνθήκες κατά τις οποίες πραγματοποιήθηκε η υδρόλυση και μπορεί να γίνει αντιληπτή μέσω της ανίχνευσης μερκαπτουρικών οξέων στα ούρα.<sup>8</sup> Μετά την κατανάλωση ωμών λαχανικών όπου δρα το ένζυμο μυροσινάση κατά την υδρόλυση, η αποβολή των μερκαπτουρικών ανέρχεται σε ποσοστό 17-88% της καταναλωθείσας ποσότητας γλυκοσινολικών και η συγκέντρωση φτάνει την μέγιστη τιμή στα ούρα μέσα σε 8 ώρες από την κατανάλωση σταυρανθών λαχανικών.<sup>39,40</sup> Το ποσοστό αυτό εξαρτάται επίσης από το είδος του φυτού (π.χ. μπρόκολο, λάχανο, κτλ), το σώμα του φυτού και το μόριο. Από την άλλη με την κατανάλωση λαχανικών που έχουν μαγειρευτεί όπου δρα το γαστρεντερικό μικροβίωμα αντί της μυροσινάσης, το ποσοστό αποβολής δεν ξεπερνά το 20% και η ποσότητα των μερκαπτουρικών οξέων στα ούρα φτάνει την μέγιστη τιμή μετά από 12 ώρες από την κατανάλωση των λαχανικών. Τελικά τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν πως η υδρόλυση των γλυκοσινολικών μέσω μυροσινάσης αποδίδει πολύ μεγαλύτερες ποσότητες ισοθειοκυανικών και σε μικρότερους χρόνους, συγκριτικά με την υδρόλυση μέσω της βακτηριακής μυροσινάσης.<sup>8,41</sup>

Σε πειράματα με ραδιοεπισήμανση στα ισοθειοκυανικά παρατηρήθηκε υψηλότερη συγκέντρωση στον εντερικό βλεννογόνο, τα νεφρά, το συκώτι και την ουροδόχο κύστη και αμέσως μετά ακολουθούν η σπλήνα



και οι πνεύμονες. Στην καρδιά και τον εγκέφαλο παρατηρήθηκε η μικρότερη συγκέντρωση ραδιενέργειας.<sup>8,42</sup>

Από τη σύγκριση της βιοδιαθεσιμότητας της σουλφοραφάνης που προέρχεται 1) από αποξηραμένο μπρόκολο που περιέχει μυροσινάση, 2) από σκόνη μπρόκολου που περιέχει γλυκοραφανίνη αλλά απουσιάζει η μυροσινάση και 3) την βιοδιαθεσιμότητα της σουλφοραφάνης όταν καταναλώθηκαν τα δυο παραπάνω σε συνδυασμό. Στο πλάσμα και στα ούρα φάνηκε ότι ο συνδυασμός σκόνης από μπρόκολο με το μπρόκολο παρουσίασε την μεγαλύτερη βιοδιαθεσιμότητα μεταξύ των τριών. Στην έρευνα συμμετείχαν 4 άτομα που κατανάλωσαν τα γεύματα των τριών ομάδων με την μεσολάβηση 2 με 3 ημερών για λόγους αποτοξίνωσης και μεγαλύτερης αξιοπιστίας στις μετρήσεις. Η σκόνη από μπρόκολο, από την οποία απουσιάζει η μυροσινάση, αποτέλεσε την πιο φτωχή πηγή σουλφοραφάνης καθώς βρέθηκε στα ούρα μόνο το 20% της αρχικής προσληφθείσας ποσότητας. Δεν υπήρξε διαφοροποίηση στη συγκέντρωση ισοθειοκυανικών στο πλάσμα στις 3 ώρες, αλλά παρατηρήθηκε μια αύξηση στις 24 ώρες. Αυτό υποδεικνύει αργοπορημένη απορρόφηση, λόγω του ότι υπάρχει έλλειψη μυροσινάσης, οπότε η υδρόλυση πραγματοποιήθηκε όταν εισήλθε το γεύμα στο κόλον του εντέρου από το μικροβίωμα που είναι εγκατεστημένο εκεί. Στο συνδυασμό των 2 παρατηρήθηκε συνεργική δράση που οδήγησε σε υψηλότερη βιοδιαθεσιμότητα συγκριτικά με το καθένα ξεχωριστά. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η μυροσινάση που προήλθε από το αυτοτελές μπρόκολο, όταν ενεργοποιήθηκε από την μάσηση, κατέλυσε την υδρόλυση των ισοθειοκυανικών τόσο από το μπρόκολο όσο και μέρος αυτών από την σκόνη μπρόκολου που δεν διέθετε το ένζυμο. Τα αποτελέσματα δεν παρουσίασαν καμία ένδειξη επιβάρυνσης του συκωτιού ή εμφάνιση τοξικότητας. Ωστόσο, η έρευνα αυτή πραγματοποιήθηκε σε πολύ μικρό δείγμα και τα αποτελέσματα δεν μπορούν να θεωρηθούν πλήρως αξιόπιστα. Παρ' όλα αυτά μπορεί να

ληφθεί υπόψιν για μετέπειτα μελέτες, καθώς η συγκεκριμένη συνέργεια μεταξύ μπρόκολου και σκόνης αυτού, μπορεί να δώσει στην αγορά ένα αναβαθμισμένο προϊόν, με πιο ήπια γεύση από την χαρακτηριστική γεύση των σταυρανθών λαχανικών για τα άτομα που τα αποφεύγουν λόγω γεύσης, μεγαλύτερη συγκέντρωση γλυκοραφανίνης από την σκόνη συγκριτικά με το ώριμο μπρόκολο που θεωρείται πιο ανθεκτική και μπορεί να επεκτείνει την ζωή του προϊόντος στο ράφι. Συμπερασματικά, η υδρόλυση των γλυκοσινολικών μέσω μυροσινάσης οδηγεί σε αποδοτικότερη αξιοποίηση των προϊόντων της αντίδρασης από τον ανθρώπινο οργανισμό, «ξεκλειδώνοντας» τις πλήρες δυνατότητες των οφελών που προσδίδουν στην υγεία του ανθρώπου.<sup>43</sup>

Η μελέτη της επίδρασης του βρασμού σε τρία σταυρανθή λαχανικά, γουλί (*Brassica napobrassica*), λευκό λάχανο (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) και κόκκινο λάχανο (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *Rubra*), σχετικά με την διήθηση και διάσπαση των γλυκοσινολικών και τον σχηματισμό των προϊόντων διάσπασης τους, έδειξε ότι με την επίδραση θερμικής επεξεργασίας (βρασμό) με σταδιακή άνοδο της θερμοκρασίας στους 100 °C στα πρώτα 10 λεπτά η ενζυματική υδρόλυση έπαιξε τον πρωταρχικό ρόλο δίνοντας ως κύρια προϊόντα ισοθειοκυανικά, ενώ τα νιτρίλια και επιθειονιτρίλια μειωνόταν σταδιακά. Αυτό οφείλεται στο ότι η μυροσινάση είναι ενεργή τα πρώτα λεπτά και ευνοεί την δημιουργία των ισοθειοκυανικών, ενώ όσο αυξάνεται η θερμοκρασία και ξεκινώντας από τους 40 °C σταδιακά αδρανοποιείται και φτάνοντας στους 81 °C παρουσιάζει σχεδόν πλήρη αδρανοποίηση. Η μειωμένη ποσότητα νιτρίλιων και επιθειονιτρίλιων οφείλεται στην αδρανοποίηση του ενζύμου ESP, το οποίο όπως είδαμε και νωρίτερα είναι απαραίτητο για την δημιουργία των προϊόντων αυτών. Η αδρανοποίηση του ESP συμβαίνει γρηγορότερα από αυτήν της μυροσινάσης και έτσι τα κύρια προϊόντα στα πρώτα λεπτά είναι οι ισοθειοκυανιούχες ενώσεις. Με έκθεση των λαχανικών σε υψηλότερες

θερμοκρασίες και για περισσότερη ώρα επήλθε η λεγόμενη κυτταρική λύση και θερμική διάσπαση των γλυκοσινολικών (μη ενζυμική), το οποίο οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης των νιτριλίων στους φυτικούς ιστούς αλλά και στο νερό βρασμού. Ειδικότερα, η μείωση της δραστηριότητας της μυροσινάσης προκλήθηκε μετά τα 4 λεπτά παραμένοντας μόνο ένα ποσοστό 13-16% ενεργό, ενώ στα 5 λεπτά έφτασε το ποσοστό 4-6%.

Έπειτα με τον περαιτέρω βρασμό στα 120 λεπτά παρατηρήθηκε ο σχηματισμός και παρουσία των νιτριλίων σε ποσοστό 99%, 99,5% και 92% σε γογγύλια, λευκό και κόκκινο λάχανο αντίστοιχα, λόγω της θερμικής διάσπασης των γλυκοσινολικών. Συμπερασματικά, η σύντομη θερμική επεξεργασία (1-3 λεπτά) και σε θερμοκρασίες έως 60 °C προσδίδει τις υψηλότερες συγκεντρώσεις σε ισοθειοκυανιούχες ενώσεις στα σταυρανθή λαχανικά, μεγιστοποιώντας τις ευεργετικές επιδράσεις των ενώσεων αυτών για την υγεία του ανθρώπου. Οι αυξημένες θερμοκρασίες και ο εκτεταμένος χρόνος θερμικής επεξεργασίας θα οδηγήσει σε αύξηση των νιτριλίων στα λαχανικά, παύση της δημιουργίας ισοθειοκυανικών και διήθηση τους στο νερό μετά από την λύση των φυτικών κυττάρων.<sup>44</sup>

## **4.1 Παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα των ισοθειοκυανικών**

### **4.1.1 Οξεοβασικές συνθήκες**

Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, τεμαχίζοντας και κόβοντας, ή μασώντας τα σταυρανθή λαχανικά ενεργοποιείται το ένζυμο μυροσινάση και αρχίζει η ενζυματική υδρόλυση. Οι οξεοβασικές συνθήκες που θα επικρατήσουν καθορίζουν και τα προϊόντα που θα παραχθούν. Έτσι, σε όξινο pH και με την παρουσία της πρωτεΐνης ESP και κατιόντος δισθενούς σιδήρου παρατηρείται αύξηση των νιτριλίων,

ενώ σε ουδέτερο pH παρατηρείται αύξηση των ισοθιοκυανικών ενώσεων.

#### **4.1.2 Θερμική επεξεργασία**

Με την **θερμική επεξεργασία** παρουσία νερού, όπως είναι ο βρασμός, προκαλείται λύση των φυτικών κυττάρων, με επακόλουθο την διάσπαση των μεμβρανών και την αύξηση της διαπερατότητας του κυτταρικού τοιχώματος. Λόγω αύξησης της διαπερατότητας, τα γλυκοσινολικά αλλά και πολλά ένζυμα περνούν στο νερό στο οποίο βράζουν τα λαχανικά. Προκαλείται δραματική μείωση στη συγκέντρωση των γλυκοσινολικών στα λαχανικά μετά το πέρας του βρασμού, το οποίο συνεπάγεται με μικρότερη συγκέντρωση των μεταβολιτών, προϊόντων των γλυκοσινολικών κατά την κατανάλωση.

#### **4.1.3 Ενζυμική/ μη ενζυμική υδρόλυση**

Κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας τα ένζυμα παύουν να είναι ενεργά και μπορεί να προκληθεί μη ενζυμική διάσπαση των γλυκοσινολικών. Η πρωτεΐνη ESP θεωρείται πιο ανθεκτική και σταθερή στην αύξηση της θερμοκρασίας από το ένζυμο μυροσινάση. Η δημιουργία νιτριλίων και επιθειονιτριλίων ευνοείται συγκριτικά με τον σχηματισμό ισοθιοκυανικών, ενώ τα τελευταία μπορεί να αυξηθούν με την επιλογή σύντομης θερμικής επεξεργασίας.

#### **4.1.4 Δομή των γλυκοσινολικών**

**Η δομή των γλυκοσινολικών** αποτελεί σημαντικό παράγοντα στη θερμοανθεκτικότητα τους και ειδικότερα η πλευρική τους αλυσίδα, η οποία τα διαφοροποιεί. Τα ινδολικά και μεθυλθειοαλκυλο-γλυκοσινολικά θεωρούνται γενικά σταθερότερα, αλλά ακόμη και αυτά

μπορούν να επηρεαστούν και από σύντομη θερμική επεξεργασία. Πέραν της δομής, **η μορφή του φυτού και η ποσότητα του νερού** μπορούν να επηρεάσουν επίσης την θερμοαντοχή των γλυκοσινολικών στο τρόφιμο.

#### **4.1.5 Συνθήκες μετά την συγκομιδή των λαχανικών**

Οι συνθήκες που θα επικρατήσουν μετά τη συγκομιδή των λαχανικών είναι ένας ακόμη παράγοντας που επηρεάζει την ποσότητα και βιοδιαθεσιμότητα των GLS. Ειδικότερα, πλήθος ερευνών έδειξαν πως οι χαμηλές θερμοκρασίες, η ελεγχόμενη ατμόσφαιρα συσκευασίας των προϊόντων και η χρήση ακτινοβολιών όχι μόνο μπορεί να διατηρήσει το περιεχόμενο των λαχανικών σε γλυκοσινολικά, αλλά μπορεί να οδηγήσει και σε αύξηση των ήδη υπάρχοντων συγκεντρώσεων τους.<sup>8,9</sup>

## **4.2 Μέθοδοι επεξεργασίας σταυρανθών**

Οι μέθοδοι επεξεργασίας στις οποίες θα υποβληθούν τα λαχανικά παίζει αναμφισβήτητα σημαντικό ρόλο στην βιοδιαθεσιμότητα των γλυκοσινολικών και των βιοενεργών ισοθιουκυανικών. Από τις διαδικασίες προετοιμασίας, όπως είναι ο τεμαχισμός, μέχρι και το μαγείρεμα μπορεί να υπάρξουν δραματικές αλλαγές στη διαθέσιμη συγκέντρωση των δραστικών αυτών ενώσεων που θα περιέχονται στα προς κατανάλωση λαχανικά. Θα δούμε λοιπόν πως η κάθε μέθοδος επηρεάζει τη βιοδιαθεσιμότητα τους και ποια θεωρείται η ιδανική για να επιτευχθούν οι μέγιστες συγκεντρώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό.

## **Μη θερμικές μέθοδοι επεξεργασίας**

Αρχικά, η μη θερμική μέθοδος επεξεργασίας των λαχανικών και συγκεκριμένα ο τεμαχισμός (shredded), έδειξε μέσα από έρευνα μείωση έως και 75% των GLS μέσα σε 6 ώρες. Ο τεμαχισμός σε ψιλά κομμάτια (chopped) παρουσίασε επίσης μειωμένο περιεχόμενο γλυκοσινολικών, με μοναδική εξαίρεση τα GLS 4-hydroxy-and 4-methoxy-3-indolylmethyl που παρουσίασαν αύξηση της συγκέντρωσης τους.<sup>9</sup>

Συμπεραίνουμε ότι αυτή η μείωση προκαλείται λόγω της υδρόλυσης των γλυκοσινολικών που πυροδοτείται έπειτα από τραυματισμό του φυτικού ιστού και απελευθέρωσης του ενζύμου μυροσινάση. Αυτό όμως αυτομάτως δίνει ως επακόλουθο την αύξηση των προϊόντων της αντίδρασης, όπως είναι τα ITCs.

## **Κλίβανος (autoclave)**

Η επεξεργασία των λαχανικών με έντονες θερμικές μεθόδους προκαλεί τις μεγαλύτερες απώλειες και χαμηλές συγκεντρώσεις των ITCs. Η **χρήση κλίβανου** σε δείγματα φυτών δείχνει υψηλότερα επίπεδα γλυκοσινολικών λόγω αδρανοποίησης του ενζύμου από τις υψηλές θερμοκρασίες και πιέσεις που υφίστανται σε αυτές τις συσκευές. Εφόσον όμως δεν πραγματοποιείται η υδρόλυση, δεν παράγονται τα ITCs.<sup>9</sup>

## **Βρασμός (boiling)**

**Ο βρασμός** είναι από τις πιο έντονες μεθόδους θερμικής επεξεργασίας που έχει μελετηθεί και χρησιμοποιείται πολύ συχνά στα σπίτια.

Πέραν της θερμικής υποβάθμισης και διήθησης των γλυκοσινολικών που αναφέραμε νωρίτερα (ενότητα 4.1.2), αναμένουμε και την παρεμπόδιση του σχηματισμού των ITCs , λόγω υψηλής θερμοκρασίας και αδρανοποίησης της μυροσινάσης.<sup>9,13</sup>

### **Μικροκύματα (microwave)**

Η επιρροή των μικροκυμάτων έχει να κάνει από τις ρυθμίσεις της συσκευής και του προγράμματος που θα επιλεγεί σε δύναμη και διάρκεια. Κάτω από 750W και σε σύντομο χρόνο, υφίσταται μερική αδρανοποίηση του ενζύμου, επομένως μπορεί να παραχθεί κάποια ποσότητα ITCs.<sup>9,13</sup>

Μια εναλλακτική μέθοδος που μελετήθηκε είναι η χρήση σακούλας ατμού με βαλβίδα που απελευθερώνει τον ατμό μέσα σε φούρνο μικροκυμάτων και χρησιμοποιήθηκε για την προετοιμασία κατεψυγμένου μπρόκολου. Η μέθοδος αυτή προστατεύει την παγωμένη τροφή από μεγάλες απώλειες νερού και θρεπτικών συστατικών ενώ μπορεί να διατηρήσει σε ικανοποιητικό επίπεδο τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών ουσιών.<sup>45</sup>

### **Άτμιση (steaming)**

Η άτμιση είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιεί τον ατμό ως τρόπο μαγειρέματος και παρουσιάζει τις μικρότερες απώλειες θρεπτικών συστατικών συγκριτικά με άλλες μεθόδους, καθώς τα λαχανικά παραμένουν έξω από το νερό καθ' όλη τη διάρκεια του μαγειρέματος. Οι έρευνες έδειξαν πως οι σύντομοι χρόνοι (2-3 λεπτά) οδηγούν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ισοθειοκυανικών από τις συγκεντρώσεις νιτριλίων, το οποίο οφείλεται στην αδρανοποίηση του ESP που συμβαίνει σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, ενώ η μυροσινάση αδρανοποιείται σε υψηλότερες θερμοκρασίες και που επιτυγχάνονται σε μεγαλύτερους χρόνους.<sup>13</sup>

Θεωρείται η πιο ιδανική μέθοδος καθώς παρατηρούνται οι μικρότερες απώλειες σε θρεπτικά συστατικά των τροφών.

### **Σοτάρισμα (stir-frying)**

Αποτελεί σύντομη θερμική επεξεργασία, όπου τα λαχανικά τοποθετούνται σε τηγάνι με μικρή ποσότητα προθερμασμένου λαδιού,

ενώ ανακατεύονται συνεχώς. Σε αυτήν την περίπτωση επικρατεί θερμική υποβάθμιση της τροφής, ενώ οι απώλειες σε γλυκοσινολικά θα καθοριστούν σε μεγάλο βαθμό από το είδος του λαχανικού, πέραν του χρόνου μαγειρέματος.<sup>13</sup>

Γενικότερα, παρά τις ακραίες θερμοκρασίες και χρόνους κάποιων μεθόδων επεξεργασίας που θα μειώσουν την δραστικότητα του ενζύμου που απαιτείται για να παραχθούν τα πολυπόθητα ITCs, μπορεί να παραχθεί έστω και μια μικρότερη ποσότητα αυτών μέσω της ενζυμικής δραστηριότητας των μικροβίων του εντερικού αυλού. Αυτό είναι εφικτό στην περίπτωση που θα εξακολουθεί να υπάρχει ποσότητα GLS και δεν θα έχει διηθηθεί στο νερό.

### **4.3 Επίτευξη αύξησης του επιπέδου βιοδιαθεσιμότητας των ισοθειοκυανικών στον ανθρώπινο οργανισμό**

Διεξάχθηκε μια έρευνα κατά την οποία εφαρμόσθηκε ήπια θερμική επεξεργασία σε συνδυασμό με βακτήρια γαλακτικού οξέος (lactic acid bacteria) σε ανθοκεφαλές μπρόκολου με σκοπό την επίτευξη μεγαλύτερης βιοδιαθεσιμότητας σουλφοραφάνης. Συγκεκριμένα, στα 3 λεπτά θέρμανσης στους 65°C παρατηρήθηκε 5 φορές μεγαλύτερη συγκέντρωση της σουλφοραφάνης στο συγκεκριμένο μπρόκολο συγκριτικά με το ωμό.

Με θέρμανση για 3 λεπτά στους 65 °C και συνδυασμό με ζύμωση βακτηρίων γαλακτικού οξέος προέκυψε μεγαλύτερη ενίσχυση, δίνοντας 16 φορές μεγαλύτερη συγκέντρωση σουλφοραφάνης συγκριτικά με το ωμό μπρόκολο. Έπειτα το επεξεργασμένο αυτό μπρόκολο κατάφερε να διατηρήσει το 94% του περιεχομένου του όταν διατηρήθηκε στους 4 για 2 εβδομάδες.<sup>46</sup>



Μια λύση για να μην χαθούν τα θρεπτικά συστατικά κατά το μαγείρεμα θα ήταν η χρήση του νερού στο οποίο μαγειρεύτηκαν τα λαχανικά και διηθήθηκαν GLS και ITCs. Θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν σε σούπες ή σαν ζωμοί σε άλλα φαγητά.<sup>47</sup>

Συγκεντρωτικά, τα μέγιστα επίπεδα ισοθιοκυανικών στον οργανισμό μπορούν να επιτευχθούν με τις παρακάτω ενέργειες :

1. Σύντομος χρόνος και χαμηλή θερμοκρασία μαγειρέματος (περίπου μέχρι 3 λεπτά και 60° C). Ιδανικός τρόπος μαγειρέματος η άτμιση.
2. Σε περίπτωση εκτεταμένης θερμικής επεξεργασίας, όπως συμβαίνει στον βρασμό, να χρησιμοποιείται και το νερό βρασμού.
3. Το βασικό pH αποτελεί ιδανική συνθήκη σχηματισμού ισοθιοκυανικών.
4. Η υδρόλυση μέσω μυροσινάσης αποδίδει μεγαλύτερα επίπεδα ITCs συγκριτικά με την υδρόλυση μέσω του εντερικού μικροβιώματος του ανθρώπου.
5. Χαμηλές θερμοκρασίες και ελεγχόμενη ατμόσφαιρα συσκευασίας μετά την συγκομιδή των λαχανικών.

## **Κεφάλαιο 5 : Βιολογικές Δράσεις**

---

### **5.1 Αντιοξειδωτική δράση**

Τα κύτταρα του οργανισμού μας χρησιμοποιούν το οξυγόνο σε μια σειρά διαφόρων βιοχημικών αντιδράσεων, όπως είναι η παραγωγή ενέργειας (τριφωσφορική αδενοσίνη ή ATP), η οποία διαδραματίζεται συγκεκριμένα στα μιτοχόνδρια. Παράλληλα με την δημιουργία ATP, επέρχεται και ο σχηματισμός ελεύθερων ριζών ως παραπροϊόντα της

κυτταρικής οξειδοαναγωγικής διαδικασίας. Ως κύρια παραπροϊόντα καλούνται τα δραστικά είδη οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) και τα δραστικά είδη αζώτου (Reactive Nitrogen Species, RNS). Είναι εξαιρετικά ασταθείς ενώσεις, διότι λείπει από το μόριο τους ένα ηλεκτρόνιο, το οποίο και αναζητούν από άλλα μόρια, με σκοπό να μεταπέσουν σε σταθερότερη ενεργειακή κατάσταση (κατάσταση ελάχιστης ενέργειας). Έτσι, με την αφαίρεση του ηλεκτρονίου από μακρομόρια του οργανισμού οδηγούμαστε σε υπεροξειδωση της λιπιδικής μεμβράνης, οξείδωση των πρωτεϊνών, καταστροφή του DNA, καθώς και ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών που επηρεάζουν την μεταγραφή γονιδίων, τον κυτταρικό κύκλο, πολλαπλασιασμό και απόπτωση. Εδώ έρχονται να δράσουν τα ενδογενή και εξωγενή αντιοξειδωτικά, τα οποία απενεργοποιούν τις ρίζες που σχηματίζονται με αποτέλεσμα να μην βλάπτονται τα μακρομόρια του οργανισμού. Σε φυσιολογικές συνθήκες, υπάρχει ισορροπία μεταξύ σχηματισμού και εξουδετέρωσης των ελεύθερων ριζών. Παρ' όλα αυτά, όταν χαθεί αυτή η ισορροπία και προκύψει υπέρμετρη αύξηση των ελεύθερων ριζών, το κύτταρο εισέρχεται σε κατάσταση «οξειδωτικού στρες». Η κατάσταση αυτή μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση διαφόρων χρόνιων και εκφυλιστικών παθήσεων όπως είναι ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, οι νευρολογικές ανωμαλίες, ο διαβήτης και η γήρανση.<sup>48</sup>

Πέραν των ενδογενών αντιοξειδωτικών, που δρουν ως αμυντικοί μηχανισμοί του οργανισμού στο οξειδωτικό στρες, που πολλές φορές μπορεί να μην είναι αρκετοί, υπάρχουν τα εξωγενή αντιοξειδωτικά, τα οποία και λαμβάνουμε από τις τροφές. Μαζί με τα φλαβονοειδή, τις πολυφαινόλες, τις ανθοκυανίνες και άλλα αντιοξειδωτικά ανήκουν και οι ισοθειοκυανιούχες ενώσεις.<sup>49</sup>

Τρεις είναι οι τρόποι με τους οποίους τα αντιοξειδωτικά ασκούν την προστατευτική τους δράση :

1. πρόληψη → διατηρούν χαμηλά τα επίπεδα των ελεύθερων ριζών
2. εξάλειψη → εντοπίζουν και εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες

3. επιδιόρθωση → επιδιορθώνουν την ήδη προκληθείσα ζημιά που έχει δημιουργηθεί σε ορισμένα μόρια.<sup>48</sup>

Το ισοθειοκυανικό βενζύλιο (BITC) και ισοθειοκυανικό φαινύλιο (PEITC) παρουσιάζουν αντικαρκινικές ιδιότητες, μέσω της παραγωγής δραστικών ριζών οξυγόνου αντί της εξουδετέρωσης.<sup>50</sup> Παρ' ότι μπορεί να θεωρηθεί αντιφατικό, υπάρχουν κάποια αντιοξειδωτικά, τα οποία μπορούν να παρουσιάσουν και προ-οξειδωτικές ιδιότητες. Γενικώς, όταν βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις δρουν ως αντιοξειδωτικές ουσίες, αποτρέποντας την δημιουργία οξειδωτικού στρες, ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορούν να προωθήσουν την παραγωγή ROS και να εμφανίσουν κυτταροτοξική δράση. Υπάρχουν διάφορα άλλα αντιοξειδωτικά που επιτυγχάνουν να εξουδετερώσουν καρκινικά κύτταρα μέσω της παραγωγής ROS, όπως για παράδειγμα η ρεσβερατρόλη, η κουερσετίνη και η καρνοσόλη.<sup>51</sup> Ειδικότερα, το BITC με την παραγωγή ROS προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και ρήξη της μιτοχονδριακής μεμβράνης, πιθανώς πυροδοτώντας την απόπτωση του καρκινικού κυττάρου.<sup>50</sup>

## 5.2 Αντικαρκινική δράση

Οι μηχανισμοί με τους οποίους οι ισοθειοκυανιούχες ενώσεις ασκούν κυτταροπροστατευτική δράση ενάντια στην καρκινογένεση είναι επαγωγή της διακοπής του κυτταρικού κύκλου και της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων, η ρύθμιση των επιγενετικών παραγόντων και η ενίσχυση της αποβολής των περιβαλλοντικών τοξινών.<sup>5</sup>

Για να κατανοήσουμε καλύτερα την δράση των ισοθειοκυανικών, πρέπει να καταλάβουμε ποιος είναι ο ρόλος τους όταν εισαχθούν στον οργανισμό και με ποιον τρόπο δρουν. Συγκεκριμένα, ένας σημαντικός μηχανισμός δράσης είναι η επαγωγή του σηματοδοτικού μονοπατιού Keap1-Nrf2-ARE, μέσω του οποίου προκύπτουν τα κυτταροπροστατευτικά ένζυμα και πρωτεΐνες γνωστά και ως ένζυμα της

φάσης 2. Παρακάτω, αναλύεται ο μεταβολισμός των ξενοβιοτικών στις τρεις φάσεις του, που έχει ως σκοπό την αποβολή τυχόν καρκινογόνων ουσιών αλλά και το μονοπάτι Keap1–Nrf2–ARE, το οποίο αποτελεί μέρος της όλης αμυντικής διαδικασίας του οργανισμού απέναντι στη στην καταστροφή των μακρομορίων του που μπορεί να οδηγήσουν σε καρκινογένεση.

### **5.2.1 Μεταβολισμός ξενοβιοτικών**

Τα ένζυμα της φάσης 1 (phase 1 enzymes) και κυρίως τα ένζυμα κυτοχρώματος P450 (cytochrome P450 enzymes) καταλύουν αντιδράσεις που εισάγουν λειτουργικές ομάδες μέσα σε υδροφοβικά οργανικά μόρια. Σε κάποιες περιπτώσεις τα προϊόντα της αντίδρασης είναι ηλεκτρονιόφιλα και τείνουν να καταστρέφουν την δομή του DNA και των πρωτεϊνών.

Τα ένζυμα της φάσης 2 (phase 2 enzymes) προστατεύουν τον οργανισμό από την καταστροφή αυτή των μακρομορίων, καταλύοντας μια αντίδραση κατά την οποία πραγματοποιείται σύζευξη των ηλεκτρονιόφιλων προϊόντων της φάσης 1 που αναφέραμε με ενδογενή προσδέματα όπως είναι η γλουταθειόνη και το UDP- γλυκορουνικό οξύ. Με αυτόν τον τρόπο αυξάνεται η διαλυτότητα τους και επιτυγχάνεται η αποβολή τους μέσα από τους μεταφορείς της φάσης 3 και έτσι μειώνονται τα επίπεδα των γενετοξικών ουσιών που θα μπορούσαν να δημιουργήσουν μετάλλαξη στο DNA.

Η πορεία των ξενοβιοτικών στον οργανισμό στην περίπτωση που αποτελούν προκαρκινογόνες ουσίες θα εξαρτηθεί από την λειτουργία και την ισορροπία που θα επιτευχθεί μέσα από τις τρεις φάσεις του μεταβολισμού. Επομένως ένας τρόπος για την προστασία του οργανισμού από την τοξικότητα θα μπορούσε να είναι η αναστολή των ενζύμων της φάσης 1 και η επαγωγή λειτουργίας των ενζύμων της φάσης 2 που ασκούν προστατευτική δράση. Η λειτουργία και δράση των ενζύμων της φάσης 2 μπορεί να πυροδοτηθεί μέσω του μεταβολικού

δρόμου Keap1-Nrf2-ARE. Η ισοθειοκυανική ένωση σουλφοραφάνη αποτελεί έναν από τους καλύτερους φυσικούς επαγωγείς των κυτταροπροστατευτικών πρωτεϊνών (ένζυμα της φάσης 2).<sup>5</sup>

### 5.2.2 Keap1-Nrf2-ARE

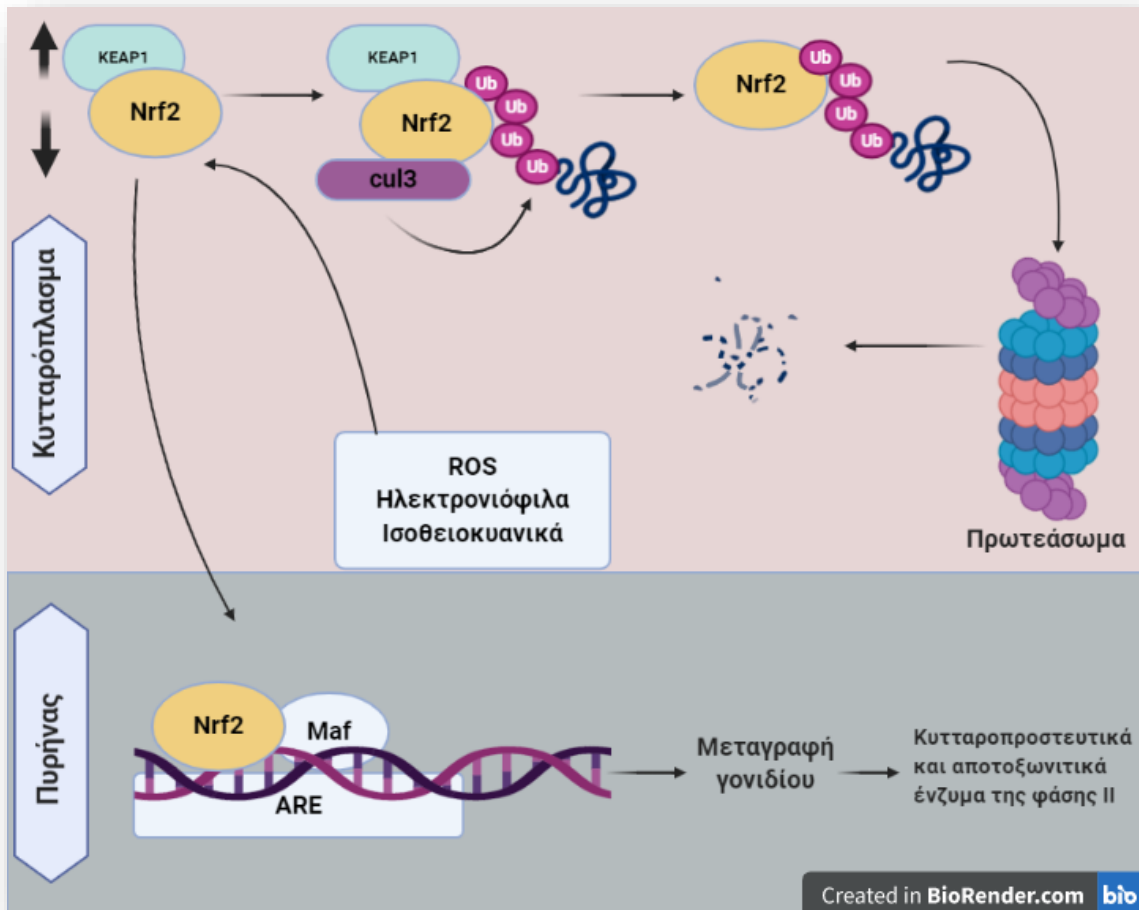
Ο μεταγραφικός παράγοντας Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) ανήκει στην οικογένεια των cap n' collar μεταγραφικών παραγόντων, η οποία έχει ως βασικό της χαρακτηριστικό τη δομή «φερμουάρ λευκίνης» (basic leucine zipper). Σε φυσιολογικές συνθήκες, δίχως την επίδραση εξωτερικών παραγόντων, ο Nrf2 βρίσκεται συνδεδεμένος με την πρωτεΐνη Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) στο κυτταρόπλασμα και ειδικότερα η σύνδεση πραγματοποιείται μέσω μιας πρωτεΐνης Nrf2 και ενός διμερούς Keap1. Η σύνδεση αυτή αποτελεί έναν συνδετικό κρίκο που θα φέρει σε επαφή τον Nrf2 με το σύμπλεγμα λιγάσης της Cul3-based E3-ουμπικουϊτίνης, προκαλώντας προσθήκη ουμπικουϊτίνης στο Nrf2, ενώ έπειτα θα οδηγηθεί σε πρωτεασωματική αποδόμηση (Εικόνα 3).<sup>52,53</sup>

Παρ' όλα αυτά, υπάρχουν συνθήκες κατά τις οποίες ο οργανισμός έρχεται σε επαφή με επαγωγικούς παράγοντες του Nrf2, όπως είναι κάποια δραστικά ενδιάμεσα οξυγόνου (ROS), ηλεκτρονιόφιλα ξενοβιοτικά ή ισοθειοκυανιούχες ενώσεις, πυροδοτείται μια διαφορετική ακολουθία αντιδράσεων και ακολουθείτε μια άλλη πορεία. Αυτή η εναλλακτική πορεία του μεταγραφικού παράγοντα ξεκινά με την αποσύνδεσή του από την πρωτεΐνη Keap1. Υπάρχουν δύο μηχανισμοί αποσύνδεσης :

1. όταν τα ξενοβιοτικά-επαγωγείς έρθουν σε επαφή με την Keap1 και συγκεκριμένα με τις κυστεΐνες που αυτή διαθέτει, σχηματίζουν διαπρωτεϊνικές γέφυρες. Αυτό διαταράσσει την σύνδεση Keap1-Nrf2 και οδηγούμαστε σε αποδέσμευση του Nrf2.

2. Πρωτεΐνες που ενεργοποιούν μονοπάτια πρωτεϊνικών κινασών οδηγούν στη φωσφορυλίωση του Nrf2 και στην αποσύνδεσή του από την Keap1.

Εικόνα 3. Σηματοδοτικό μονοπάτι Keap1-Nrf2



Μετά την αποσύνδεσή του, ο Nrf2 εισέρχεται στον πυρήνα του κυττάρου όπου διμερίζεται με τις μικρές Maf πρωτεΐνες. Έπειτα, αναγνωρίζει και προσκολλάται σε μια αλληλουχία DNA, το ARE (Antioxidant Response Element), το οποίο βρίσκεται στον υποκινητή κάποιων γονιδίων και τελικά επάγει την εκφράσή τους. Ειδικότερα, οδηγούμαστε στην έκφραση κυτταροπροστατευτικών ενζύμων και πρωτεϊνών (ένζυμα της φάσης 2).<sup>53</sup>

Ακόμη, είναι σημαντικό να αναφερθεί πως το σύστημα Keap1-Nrf2 μπορεί να αξιοποιηθεί και από τα καρκινικά κύτταρα με σκοπό την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό τους. Τελικά με αυτόν τον τρόπο ενισχύεται η αντοχή τους στις χημειοθεραπείες και στις ακτινοβολίες και δυσχεραίνεται η απόπτωση των κυττάρων αυτών.<sup>54,55</sup>

### **Ισοθειοκυανικά με αντικαρκινική δράση**

Το ισοθειοκυανικό **morigin** έπειτα από σύγκριση του με το πιο πολυμελετημένο ισοθειοκυανικό **SFN** (κυρίως για τις αντικαρκινικές του ιδιότητες και όχι μόνο), έδειξε να είναι πιο αποτελεσματικό στα κύτταρα μυελώματος και συγκεκριμένα στη μείωση της ανάπτυξή τους με μακροπρόθεσμη δράση. Το αποτέλεσμα αυτό προήλθε από την αναστολή της δράσης του NF-KB και την επαγωγή της απόπτωσης των κυττάρων μέσω της οδού που δρουν οι κασπάσες.<sup>56</sup>

Οι καρκινικοί όγκοι εκμεταλλεύονται τις διαδικασίες της αγγειογένεσης για να αναπτυχθούν. Η αγγειογένεση πραγματοποιείται κυρίως μέσω του επαγόμενου από την υποξία, μεταγραφικού παράγοντα HIF-1a και του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF). Το **BITC** δείχνει να καταστέλλει αυτούς τους αγγειογενείς παράγοντες, ενώ και το PEITC έδειξε κατασταλτική δράση απέναντι στον παράγοντα VEGF.

Ο τρόπος δράσης της **SFN** είναι μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού Nrf2 που τελικά θα μας οδηγήσει σε διακοπή του κυτταρικού κύκλου και απόπτωση του κυττάρου.

Το **AITC** παρουσίασε αντιστροφή σε ήδη προκληθείσα ζημιά στο DNA, την οποία το καρκινικό κύτταρο δεν μπορεί να αντιμετωπίσει και οδηγείται εύκολα σε απόπτωση. Αυτός είναι και ο λόγος που παρουσιάζει έντονη κυτταροτοξικότητα ειδικά στα καρκινικά κύτταρα.<sup>50</sup>

### 5.3 Αντιφλεγμονώδη και ανοσορυθμιστική δράση

Μέσα από έρευνες, έγινε εμφανής ο μηχανισμός δράσης των ισοθειοκυανικών που λειτουργούν και ως αντιφλεγμονώδεις και ανοσορυθμιστικοί παράγοντες. Ο κύριος τρόπος που προσδίδουν την αντιφλεγμονώδη λειτουργία τους είναι η παρεμπόδιση της έκφρασης προφλεγμονώδων κυτοκινών του οργανισμού και γενικότερα της φλεγμονώδης απάντησης του οργανισμού σε διάφορα ερεθίσματα, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε φλεγμονώδεις και αυτοάνοσες παθήσεις. Τα κυριότερα ισοθειοκυανικά με αυτές τις ιδιότητες ήταν τα **SFN, AITC, PEITC** <sup>5</sup>

Σε πειραματική μελέτη, η σουλφοραφάνη υποβάθμισε την έκφραση προφλεγμονώδων κυτοκινών [tumor necrosis factor alpha-(TNF $\alpha$ ), interleukin- (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-12p40, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF)] οδηγώντας σε απόπτωση των B16F-10 κυττάρων μελανώματος, ενός εξαιρετικά επιθετικού και μεταστατικού καρκίνου.<sup>57</sup>

Τα allyl- και phenethyl- ισοθειοκυανικά υποβάθμισαν τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (vascular endothelial growth factor (VEGF) και προφλεγμονώδεις κυτοκίνες. <sup>5</sup>

Σε έρευνα, με μακροχρόνια κατανάλωση μπρόκολου από 40 υγιή και υπέρβαρα άτομα και μετρήσεις τόσο κατά την διάρκεια της κατανάλωσης και όσο και μετά την παύση της, ήταν αισθητή η μείωση του επιπέδου της φλεγμονής και στις δύο φάσεις.<sup>58</sup>

Ακόμη, σε *in vivo* μελέτη σε ποντίκια που κατανάλωσαν PEITC (σε μορφή αιθέριου ελαίου με >95% σε περιεκτικότητα PEITC), παρουσιάστηκε μείωση στα συμπτώματα οξείας και χρόνιας κολίτιδας. Συγκεκριμένα, μειώθηκε το σωματικό βάρος, η συνοχή των κοπράνων, η εντερική αιμορραγία, η φλεγμονή του βλεννογόνου, τα κύτταρα goblet και η διήθηση των φλεγμονωδών κυττάρων. <sup>59</sup>



Επιπλέον, χορηγήθηκε μπρόκολο ενισχυμένο σε SFN σε ποντίκια, το οποίο υπέστη παλμικά ηλεκτρικά πεδία με σκοπό την πυροδότηση των βιολογικών του δράσεων έναντι σε ενεργοποιημένα νευρόγλοια (κύτταρα του νευρικού συστήματος), με τα οποία έχει βρεθεί συσχέτιση με τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Η SFN ήταν σε θέση να αναστέλλει την αλληλουχία της φλεγμονής μέσω της καταστολής του μεταβολικού δρόμου της ενεργοποιημένης μιτοχόνου πρωτεϊνικής κινάσης (MAPK). Επίσης, εμπόδισε την ενεργοποίηση του NF-κΒ σηματοδοτικού μονοπατιού και την έκκριση προφλεγμονώδων πρωτεϊνών.<sup>60</sup>

## 5.4 Αντιμικροβιακή δράση

Μαζί με όλες τις άλλες δράσεις που προσδίδουν τα ισοθειοκυανικά, έρχεται να προστεθεί και η αντιμικροβιακή δράση. Η ιδιότητα τους αυτή μπορεί να αποτελέσει ένα πολύτιμο εργαλείο σε διάφορους τομείς στην ζωή μας, όπως η υγεία, η γεωργία και η τεχνολογία τροφίμων. Ειδικότερα, παρουσιάζουν **συνέργεια με αντιβιοτικά**, δίνοντας την δυνατότητα να παρέχεται το ίδιο αποτέλεσμα με χαμηλότερες δόσεις αντιβιοτικού, το οποίο μπορεί να συνεισφέρει και στη μείωση των πιθανοτήτων εμφάνισης αντίστασης στα αντιβιοτικά από τα βακτήρια. Στη γεωργία, παίρνουν τον τίτλο των **φυσικών παρασιτοκτόνων**, καθώς μειώνουν την προσβολή της σοδειάς από του φυσικούς εχθρούς των φυτών, αλλά βοηθούν επίσης και στην **αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών του εδάφους**. Επιπλέον, οι αντιμικροβιακές ιδιότητες τους χρησιμεύουν και στην τεχνολογία των τροφίμων, παρέχοντας μια φυσική προσέγγιση αντί των συμβατικών χημικών συντηρητικών σε συσκευασμένα προϊόντα. Έχουν την ικανότητα να **σκοτώνουν τους μικροοργανισμούς που μπορεί να αναπτυχθούν στα συσκευασμένα προϊόντα τροφίμων**, αλλά και να αποτρέψουν την ανάπτυξή τους, επεκτείνοντας την ζωή τους στο ράφι, το λεγόμενο «shelf life». Επίσης, τα ισοθειοκυανικά χρησιμοποιούνται και ως

ενισχυτικό γεύσης, αφού προσδίδουν μια χαρακτηριστική πικάντικη γεύση, όπως για παράδειγμα το wasabi που προστίθεται σε ευρεία γκάμα προϊόντων στην Ιαπωνία.<sup>61</sup>

Μεταξύ ερευνών φάνηκε η ύπαρξη υψηλότερης αντιμικροβιακής δράσης από τα αρωματικά και υδροξυ- ITCs συγκριτικά με τα αλειφατικά.

Τα **AITC** και **PEITC** ισοθειοκυανικά έδειξαν συνέργεια με τις αντιβιοτικές ουσίες όπως η στρεπτομυκίνη έναντι των Gram αρνητικών βακτηρίων, όπως το *E. Coli* και *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>62</sup>

Παρ' όλα αυτά θα πρέπει να υπάρχει ισορροπία μεταξύ των συγκεντρώσεων ITC και αντιβιοτικού για να αποκτήσουμε την μέγιστη επιθυμητή αντιμικροβιακή δράση. Τα θετικά αποτελέσματα της συνέργειας επιτυγχάνονται σε πολύ συγκεκριμένες δόσεις, οι οποίες εάν διαφοροποιηθούν, θα υποβαθμίσουν την αντιμικροβιακή δράση του αντιβιοτικού.<sup>63</sup>

Σε έρευνα, μελετήθηκε η αντιβακτηριδιακή ιδιότητα επιλεγμένων λαχανικών, στα οποία συμπεριλαμβάνονται το York λάχανο, τα λαχανάκια Βρυξελλών, το μπρόκολο και το άσπρο λάχανο, έναντι Gram θετικών και Gram αρνητικών βακτηρίων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το York cabbage είχε την υψηλότερη αντιβακτηριακή δράση έναντι των *Listeria monocytogenes* (100%) και *Salmonella abony* (94.3%), ενώ τα υπόλοιπα 3 σταυρανθή λαχανικά έδειξαν μέτρια έως ελάχιστη δράση. Ακόμη, οι αντιβακτηριακές τους ιδιότητες συγκρίθηκαν και με συνθετικούς αντιβακτηριακούς παράγοντες, όπως το βενζοϊκό νάτριο και το νιτρώδες νάτριο και οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το York cabbage παρουσίασε πολύ μεγαλύτερη ( $P < 0,05$ ) μείωση στον πληθυσμό των *L. Monocytogenes*, από το βενζοϊκό νάτριο (84%) και νιτρώδες νάτριο (96%).<sup>64</sup>

Πλήθος λοιπόν ερευνών δίνουν αποτελέσματα με τις αντιμικροβιακές δράσεις των ITCs, με το ισοθειοκυανικό βενζύλιο (BITC), το

ισοθειοκυανικό φαινύλιο (PEITC), το ισοθειοκυανικό αλλύλιο (AITC) και τη σουλφοραφάνη (SFN) να ξεχωρίζουν.<sup>65-69</sup>

## **Κεφάλαιο 6 : Ο ρόλος των ισοθειοκυανικών στην υγεία του ανθρώπου**

---

Οι ενώσεις αυτές φαίνεται να έχουν πληθώρα ευεργετικών και θεραπευτικών ιδιοτήτων για την υγεία του ανθρώπου. Δεν εστιάζουν μόνο σε συγκεκριμένο σημείο του οργανισμού, αλλά δρουν ταυτόχρονα σε διάφορα όργανα και λειτουργίες. Προστατεύουν τον ανθρώπινο οργανισμό από βλαβερούς ξενοβιοτές (π.χ. ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού), την εμφάνιση αυτοάνοσων παθήσεων (καρκίνος, κυστική ίνωση, νόσος του Alzheimer κ.α), αλλά και διαφόρων παθολογικών καταστάσεων (διαβήτης, καρδιαγγειακές παθήσεις κ.α.).

### **6.1 Καρκίνος**

Οι μελέτες γύρω από την προστατευτική επίδραση των ισοθειοκυανικών τόσο στην πρόληψη ,όσο και στην αντιμετώπιση της εμφάνισης του καρκίνου είναι πολυπληθείς και έχουν προκαλέσει πολύ μεγαλύτερο ενδιαφέρον συγκριτικά με άλλες δράσεις τους. Συνοπτικά και ανακεφαλαιώνοντας για τους μηχανισμούς της αντικαρκινικής δράσης:

1. Εμπλέκονται στον μεταβολισμό των ξενοβιοτικών, αναστέλλοντας την λειτουργία των ενζύμων της φάσης 1 και ενισχύοντας την δράση των ενζύμων της φάσης 2.
2. Προαγάγουν τον τερματισμό του κυτταρικού κύκλου και την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων
3. Προλαμβάνουν την εμφάνιση μετάστασης και αγγειογένεσης
4. Ρυθμίζουν τις επιγενετικές διαδικασίες.<sup>70</sup>

Τα AITC, BITC, PEITC και SFN έχουν μελετηθεί εκτενώς για τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες, καθώς και για την εμπλοκή τους με το σηματοδοτικό μονοπάτι Nrf2-Kear1-ARE, αλλά και τον πυρηνικό παράγοντα kappaB (NF-kB), ο οποίος αποτελεί την άμεση ανοσολογική απάντηση του οργανισμού. Μερικά όργανα στα οποία βρέθηκε καταστολή των όγκων και προστασία από τον καρκίνο είναι το στήθος, ο εγκέφαλος, το αίμα, το κόλον, το συκώτι, πνεύμονες, πάγκρεας και ο προστάτης.<sup>71</sup>

Το BITC βρέθηκε πως εμποδίζει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων του πνεύμονα *in vivo* και *in vitro* και συγκεκριμένα μέσω πρόκλησης αυτοφαγίας στα καρκινικά κύτταρα.<sup>72</sup>

Το SFN κατάφερε να ασκήσει τις αντικαρκινικές του ιδιότητες μέσω της παρεμπόδισης των ενζύμων histone deacetylase (HDAC) σε δύο διαφορετικούς τύπους καρκινικών κυττάρων του πνεύμονα *in vitro* και *in vivo* σε ποντίκια.<sup>73</sup>

Το SFN έδρασε ως αναστολέας των histone deacetylase (HDAC) για άλλη μια φορά. Παρεμπόδισε την κυτταρική ανάπτυξη, προώθησε την απόπτωση και μείωσε την έκφραση πρωτεϊνών που παίζουν σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του στήθους.<sup>74</sup>

## 6.2 Διαβήτης

Η εμφάνιση του διαβήτη τύπου 2 αυξάνεται όλο και περισσότερο τα τελευταία χρόνια λόγω του μη υγιεινού τρόπου ζωής (καθιστική ζωή, γρήγορο φαγητό, κάπνισμα κ.α) και συνδέεται σε μεγάλο βαθμό με την ύπαρξη παχυσαρκίας.

Οι Axelsson et al έδειξαν μέσα από την έρευνά τους ότι το SFN μειώνει την παραγωγή γλυκόζης από τα ηπατικά κύτταρα κυρίως μέσω του Nrf2 και την έλλειψη ανοχής των κυττάρων στην γλυκόζη, δρώντας με

παρόμοιο τρόπο με το διαβητικό φάρμακο μετφορμίνη. Επίσης περιόρισε την έκφραση σημαντικών ενζύμων που συμμετέχουν στην διαδικασία της γλυκονεογέννεσης, μείωσε τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας στο αίμα, καθώς και την γλυκοζιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c) σε παχύσαρκους ασθενείς με απορυθμισμένο διαβήτη τύπου 2.<sup>75</sup>

Σε έρευνα που διεξήχθη σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 (στον οποίο τα κύτταρα αναπτύσσουν αντίσταση στην ινσουλίνη) και συγκεκριμένα στην ομάδα αυτών που κατανάλωναν 10 γρ ημερησίως σκόνη από μπρόκολο με υψηλή συγκέντρωση σε SFN και για 4 βδομάδες, παρουσιάστηκε μείωση στην συγκέντρωση της ινσουλίνης ορού. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι το SFN μπορεί να βοηθήσει ασθενείς που πάσχουν από διαβήτη τύπου 2 με αντίσταση στην ινσουλίνη.<sup>76</sup>

Επιπρόσθετα, οι δυσλιπιδαιμίες είναι έντονα συνυφασμένες με τον διαβήτη τύπου 2, το οποίο μεταφράζεται σε αυξημένο κίνδυνο να εμφανίσουν αυτοί οι ασθενείς καρδιαγγειακά νοσήματα, όπως για παράδειγμα η αθηροσκλήρωση. Έτσι οι ασθενείς μετά την κατανάλωση σκόνης μπροκόλου 10γρ ημερησίως για διάρκεια 4 εβδομάδων είχαν μείωση στον ορό των τριγλυκεριδίων, οξειδωμένης και μη LDL χοληστερόλης και του αθηρωματικού δείκτη (ολική χοληστερόλη / HDL), αλλά και σημαντική αύξηση στην συγκέντρωση της HDL.<sup>77</sup>

### **6.3 Νευρολογικές παθήσεις**

Το νευρικό μας σύστημα απαρτίζεται από το κεντρικό νευρικό σύστημα και το περιφερειακό και είναι υπεύθυνο για τον έλεγχο, την λειτουργία και τον συντονισμό όλων των οργάνων του σώματος. Αποτελεί ένα εξαιρετικά ευάλωτο σύστημα, για αυτό εντοπίζεται και πλήθος νευρολογικών ανωμαλιών και διαταραχών, οι οποίες χαρακτηρίζονται από σταδιακή απώλεια νευρώνων. Ο λόγος που μπορούν να οδηγήσουν σε αυτές τις διαταραχές μπορεί να είναι κληρονομικοί παράγοντες, διάφορες μεταβολικές διαδικασίες, τραύμα και επιμολύνσεις. Μερικές

από τις πιο συνηθισμένες είναι η νόσος Alzheimer, Parkinson, Huntington, η σκλήρυνση κατά πλάκας, κρανιοεγκεφαλική κάκωση, κάκωση νωτιαίου μυελού, επιληψία και ψυχωτική διαταραχή.<sup>78-80</sup> Οι κύριες ισοθειοκυανικές ενώσεις που εμφανίζουν νευροπροστατευτική δράση είναι οι εξής: σουλφοραφάνη (SFN), μοριγκίνη (MG), ισοθειοκυανικό φαινύλιο (PEITC), 6-(methylsulfinyl)hexyl-ITC (6-MSITC), Erucin (ER), με το ενδιαφέρον να επικεντρώνεται στη σουλφοραφάνη και στη μοριγκίνη.<sup>3,78,81</sup> Η προστατευτική τους δράση έναντι των νευροεκφυλιστικών παθήσεων προωθείται μέσω αντιφλεγμονώδων οδών του οργανισμού, στις οποίες έγινε νωρίτερα αναφορά, αλλά και μέσω της διαδικασίας απόπτωσης των κυττάρων.

Ειδικότερα, πραγματοποιείται μέσω των εξής διαδικασιών :

1. Μείωση της μετατόπισης του πυρηνικού παράγοντα (NF)-Κβ
2. Μείωση της παραγωγής προφλεγμονόδων κυτοκινών (IL-1β and TNF-α)
3. Παραγωγή οξειδωτικών ειδών (i-NOS, nitrotyrosine και PARP)
4. Πυροδότηση της απόπτωσης νευρικών κυττάρων.<sup>78</sup>

## **6.4 Δερματικές Ανωμαλίες**

Η εκτεταμένη έκθεση του ανθρώπου στην υπεριώδη ακτινοβολία, οδηγεί στην εμφάνιση όλο και περισσότερων δερματικών διαταραχών όπως το ηλιακό έγκαυμα, το οίδημα, ερύθημα, υπερπλασία, πρόωρη γήρανση και ανάπτυξη καρκίνου του δέρματος (με ή χωρίς μελάνωμα). Οι μηχανισμοί με τους οποίους προκαλούνται βλάβες στο δέρμα είναι η αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου και αζώτου, αλλά και η απευθείας απορρόφηση ενέργειας από τα βιολογικά μόρια του οργανισμού. Η φυσική άμυνα του οργανισμού ενάντια στη υπεριώδη ακτινοβολία είναι η μελανίνη, η οποία εξαλείφει τις ελεύθερες ρίζες, προστατεύει το DNA και αποτρέπει την βαθιά διείσδυση της ακτινοβολίας στο δέρμα. Οι έρευνες κατευθύνθηκαν προς την εύρεση

φυσικών ουσιών με προστατευτικές δράσεις από την ακτινοβολία. Μεταξύ άλλων είναι και το SFN.<sup>49</sup> Οι έρευνες δείχνουν εξασθένιση του καρκίνου του δέρματος έπειτα χορήγηση SFN <sup>82,83</sup> αλλά και PEITC<sup>84</sup> με τον μεταγραφικό παράγοντα Nrf2 να παίζει καθοριστικό ρόλο στη δράση τους αυτή. Παρ' όλα αυτά φαίνεται ότι με την γήρανση του οργανισμού μειώνεται και η δραστηριότητα και αποτελεσματικότητα του Nrf2 καθώς χάνει σταδιακά την ικανότητα του να συνδέεται με το ARE και να παράγει εν τέλει τα κυτταροστατευτικά ένζυμα. Το SFN δείχνει να επαναφέρει την δραστηριότητά του, προωθώντας την προστασία του οργανισμού από την υπερϊώδη ακτινοβολία και την οξειδωση.<sup>49</sup>

## **6.5 Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού**

Το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (*Helicobacter pylori*) αποτελεί ένα Gram αρνητικό βακτήριο, το οποίο εντάσσεται στη 1<sup>η</sup> τάξη των καρκινογόνων αιτιών σύμφωνα με τον WHO και είναι υπεύθυνο για την εμφάνιση πεπτικού έλκους, έλκους του δωδεκαδακτύλου, καρκίνο του στομάχου και γαστρίτιδας. Η συνηθισμένη θεραπεία αντιμετώπισης του είναι μια τριπλή θεραπεία που αποτελείται από έναν αναστολέα της αντλίας πρωτονίων, κλαριθρομυκίνη και τρίτον αμοξυκιλλίνη ή μετρονιδαζόλη. Παρ' όλα αυτά παρουσιάζει πολύ συχνά αντίσταση στα φάρμακα. Οι Murali et al στην ανασκόπησή τους αναφέρουν φυσικές εναλλακτικές θεραπευτικές ουσίες που βρίσκονται πέραν των άλλων (ελαιόλαδο, άγριο κύμινο, μαστίχα, κράνμπερι, ιαπωνική βερικοκιά, κανέλα, πρόπολη και κουρκουμίνη) και στο μπρόκολο με συγκεκριμένη αναφορά στο SFN.<sup>85</sup> Επίσης, σε άλλη έρευνα συγκρίθηκε η αντιμικροβιακή δράση 12 ITCs πάνω σε 12 στελέχη του ελικοβακτηριδίου. Τα αποτελέσματα ξεχώρισαν τα ισοθειοκυανικά Hirsutin, 4RBITC, SFN, με το τελευταίο να έχει την ισχυρότερη δράση και έδειξαν ότι από την μια προσδίδουν αντιβακτηριακή δράση για την

καταπολέμηση της μόλυνσης και από την άλλη προλαμβάνουν την εμφάνιση καρκίνου και όγκων του στομάχου.<sup>86</sup> Οι περισσότερες μελέτες παρ' όλα αυτά επικεντρώνονται γύρω από το SFN.<sup>87-89</sup>

## **Κεφάλαιο 7 : Άλλες εφαρμογές**

---

### **7.1 Φυσικά συντηρητικά**

Μια εναλλακτική επιλογή των τεχνητών συντηρητικών που προστίθενται στα τρόφιμα, είναι τα φυσικά συντηρητικά, ουσίες δηλαδή που υπάρχουν στη φύση. Θα πρέπει να πληρούν κάποια κριτήρια, όπως η δυνατότητα διατήρησης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων και η αποτροπή της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών, επιβλαβών για την υγεία του καταναλωτή. Η ανάγκη των βιομηχανιών για εξεύρεση φυσικών ουσιών που δρουν ως συντηρητικά για τα τρόφιμα, ολοένα και αυξάνεται καθώς ο κόσμος τείνει να προσέχει περισσότερο τις ετικέτες των τροφίμων και να επιλέγει πιο φυσικές λύσεις.<sup>90</sup> Μεταξύ άλλων ουσιών αναγνωρίστηκαν και οι ισοθειοκυανιούχες ενώσεις ως φυσικά συντηρητικά των τροφίμων, λόγω των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων τους. Κύρια παραδείγματα με τις ιδιότητες αυτές αποτελούν τα AITC και BITC, αλλά έχουμε επίσης και τα ισοθειοκυανικά SFN, PEITC, ERN, IBN και MGN.<sup>91</sup>

Σε έρευνα κατά την οποία μελετήθηκε η αντιμικροβιακή δράση τεσσάρων ITCs (3-butenyl-ITC, 4-phentenyl-ITC, 2-phenylethyl-ITC, και benzyl-ITC) έναντι 4 Gram θετικών και 7 Gram αρνητικών βακτηρίων, φάνηκε πως τα Gram αρνητικά βακτήρια είναι πιο ανθεκτικά από τα Gram θετικά απέναντι σε αντιβακτηριακές ενώσεις, το οποίο πιθανόν οφείλεται και στην διαφορετική δομή του κυτταρικού τους



τοιχώματος (τα Gram αρνητικά διαθέτουν λιποπολυσακχαριδική εξωτερική μεμβράνη). Η δράση του benzyl ITC ήταν 4 φορές μεγαλύτερη από τα 3-butenyl-ITC και 4-pentenyl-ITC, ενώ παρουσίασε 2 φορές μεγαλύτερη δράση έναντι των βακτηρίων από το 2-phenylethyl-ITC. Γενικά, το 2-phenylethyl-ITC και το benzyl-ITC που ανήκουν στα αρωματικά ITC είχαν υψηλότερη αντιβακτηριακή δράση από τα ITC 3-butenyl και 4-pentenyl που είναι αλειφατικά. Τέλος, είναι σημαντικό να αναφερθεί πως το benzyl-ITC ακόμη και στις μικρότερες συγκεντρώσεις ήταν αποτελεσματικό και συγκεκριμένα είχε καλύτερη απόδοση ακόμη και από τις αντιβιοτικές ουσίες στρεπτομυκίνη και αμπικιλίνη έναντι στα Gram θετικά βακτήρια.<sup>92</sup>

Το AITC παρουσίασε και αξιοσημείωτη συνεργική δράση με άλλες ουσίες στα πλαίσια επίτευξης των ιδανικών συνθηκών διατήρησης των τροφίμων. Ο συνδυασμός τριών φυσικών αντιμικροβιακών ενώσεων (αιθέριο έλαιο σκόρδου, nisin Z και allyl ITC) ήταν αποτελεσματικός στην μείωση του *E. coli* O157:H7 και του *Lactobacillus plantarum* στα φρέσκα λουκάνικα. Διατήρησαν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, ενώ παράλληλα προώθησαν την ασφάλεια και την επέκταση της ζωής του προϊόντος στο ράφι.<sup>93</sup>

Σε άλλη μελέτη, αναφέρεται μια εναλλακτική φυσική προσέγγιση για την συντήρηση αγγουριών τουρσί (με προσθήκη οξικού οξέος), χωρίς την χρήση των ουσιών βενζοϊκό νάτριο (sodium benzoate) ή μεταθειώδες νάτριο (sodium metabisulfite) και θερμικής επεξεργασίας. Ανακάλυψαν ότι το φουμαρικό οξύ ανέστειλε την ανάπτυξη του *Lactobacillus plantarum* και των βακτηρίων γαλακτικού οξέος που βρίσκονται στα φρέσκα αγγούρια, ενώ παράλληλα το AITC απέτρεψε την ανάπτυξη των *Zygosaccharomyces globiformis*, των οποίων η παρουσία είναι πολύ συχνό φαινόμενο στα προϊόντα τουρσί, αλλά και την δημιουργία κάποιων ζυμώσεων που παράγουν αιθανόλη και καθιστούν το προϊόν ανίκανο για κατανάλωση. Ο συνδυασμός του

φουμαρικού οξέος και του AITC κατάφερε με επιτυχία να διατηρήσει το προϊόν ασφαλές για κατανάλωση.<sup>94</sup>

Τέλος, η χρήση του AITC στην βιομηχανία τροφίμων μπορεί να επιφέρει αρκετές δυσκολίες. Πρώτον, λόγω της πτητικότητάς του, η οποία προκαλεί άμεση απελευθέρωσή του AITC στο συσκευασμένο τρόφιμο, με αποτέλεσμα την παρουσία μιας δυσάρεστης γεύσης και δεύτερον λόγω της μειωμένης διαλυτότητας του στο νερό. Παρ' όλα αυτά υπάρχουν τρόποι που μπορεί να αξιοποιηθεί χωρίς την ύπαρξη δυσάρεστων επιδράσεων.<sup>92,95</sup> Έτσι, σε μελέτη χρησιμοποιήθηκαν σπόροι μουστάρδας ως πηγή AITC για την χρήση του ως συντηρητικό σε συσκευασία τροφίμου. Ο λόγος που επιλέχθηκαν οι σπόροι αυτοί είναι το υψηλό ποσοστό σε λίπος που διαθέτουν (39-42%), το οποίο συνεισφέρει στη σταδιακή απελευθέρωση του AITC. Επιπλέον, ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε στην ποσότητα AITC που απελευθερωνόταν σταδιακά, ώστε να μην είναι μικρότερη της ελάχιστης συγκέντρωσης στην οποία αναστέλλεται ο πολλαπλασιασμός και ανάπτυξη των βακτηρίων και έτσι να μπορέσει να διατηρηθεί το τρόφιμο και να είναι ασφαλές για κατανάλωση.<sup>95</sup>

## **7.2 Οργανικά παρασιτοκτόνα σε καλλιέργειες**

Τα φυτά έχουν τους δικούς τους αμυντικούς μηχανισμούς ενάντια στους φυσικούς εχθρούς τους, όπως είναι τα έντομα και οι διάφορες ασθένειες. Συγκεκριμένα, τα σταυρανθή λαχανικά παράγουν τα γλυκοσινολικά, τα οποία στην περίπτωση καταστροφής του φυτικού ιστού θα υδρολυθούν για να προκύψουν τα τοξικά προϊόντα τους, με τα ITCs να έχουν την ισχυρότερη δράση και τελικά να απωθήσουν τους απειλητικούς εισβολείς. Ο άνθρωπος αξιοποιεί αυτόν τον ήδη υπάρχων μηχανισμό αυτών των φυτών για να δημιουργήσει παρασιτοκτόνα και για άλλες καλλιέργειες φυτών.<sup>96-98</sup> Τα κυριότερα ισοθειοκυανικά με

παρασιτοκτόνο δράση είναι το MITC (methyl isothiocyanate) και το AITC (allyl isothiocyanate).

Παρ' όλα αυτά, η αποτελεσματικότητά τους θα καθοριστεί από πολλούς παράγοντες, όπως είναι οι περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία, ποσοστό υγρασίας, pH) και η σύσταση του εδάφους, που επηρεάζουν έντονα τον ρυθμό διάσπασης των ITC και κατ' επέκταση τον χρόνο δράσης τους ενάντια στα έντομα.<sup>99,100</sup> Συγκεκριμένα, με την αύξηση της θερμοκρασίας και της υγρασίας του εδάφους βρέθηκε σε έρευνα πως αυξήθηκε ο ρυθμός διάσπασης του AITC. Γι' αυτό θα πρέπει οι παράγοντες αυτοί να ληφθούν υπόψιν, προκειμένου να εφαρμοσθεί η σωστή δόση παρασιτοκτόνου. Ένα άλλος παράγοντας είναι και η παρουσία κάποιων εντόμων. Πολλά έντομα, όπως η μύγα *Delia radicum* (τάξη: Diptera, οικογένεια: Anthomyiidae), έχουν αναπτύξει κάποιους αμυντικούς μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να μεταβολίσουν τις τοξικές αυτές ενώσεις και να επιβιώσουν. Αυτό οφείλεται στην λειτουργία κάποιων μικροοργανισμών του εντέρου τους.<sup>101</sup>

Το MITC προκύπτει ως προϊόν διάσπασης κάποιων καπνογόνων παρασιτοκτόνων όπως είναι το metam-sodium (sodium-methyldithiocarbamate), metam-potassium (potassium-methyldithiocarbamate) και το dazomet. Πολλά δεδομένα δείχνουν πως η έκθεση των ανθρώπων στο MITC προσβάλλει την υγεία, με κύρια συμπτώματα τον οφθαλμικό ερεθισμό. Η έκθεση στο MITC είναι εφικτή λόγω έντονης πτητικότητας της ουσίας και μικρής απόστασης των κατοικήσιμων περιοχών από τις καλλιέργειες. Οι Dourson, Kohrman-Vinsent και Allen αποτύπωσαν τα ανεκτά όρια της ποσότητας MITC, που δεν δημιουργεί ανεπιθύμητες παρενέργειες και υπολογίζονται σε 0.2 ppm (συγκέντρωση methyl) στις 4 ώρες έκθεσης του οργανισμού και 0.8 ppm για 14 λεπτά έκθεσης.<sup>102</sup> Παρόμοια δεδομένα βρέθηκαν και από άλλους ερευνητές.<sup>103</sup> Σε άλλη μελέτη βρέθηκε ένας τρόπος επίλυσης του θέματος της πτητικότητας του MITC, με την κάλυψη του εδάφους με νερό, και συγκεκριμένα δημιουργώντας 2,5 εκατοστά

στρώσης νερού. Υπήρξε μείωση της πτητικότητας της ουσίας σε ποσοστό 71-74% συγκριτικά με την απουσία νερού. Το γεγονός αυτό, συνείσφερε εκτός της προστασίας της υγείας του ανθρώπου και του περιβάλλοντος, στην αύξηση της απόδοσης της παρασιτοκτόνου δράσης και συνεπώς στην διεκπεραίωση του αποδοτικού ελέγχου του πληθυσμού των εντόμων.<sup>104</sup>

## **Κεφάλαιο 8: Αλληλεπίδραση ισοθειοκυανικών με άλλες ουσίες**

---

### **ITCs και αντικαρκινικά φάρμακα**

**Αρνητική αλληλεπίδραση**→ σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να τροποποιήσουν τον μεταβολισμό των φαρμάκων ενισχύοντας την έκφραση των γονιδίων αλλά και της δραστηριότητας των ενζύμων που είναι υπεύθυνα για τον μεταβολισμό των φαρμάκων (OTC φάρμακα, π.χ. ketoprofen, verapamil, furosemide).

Αυτό τελικά μπορεί να οδηγήσει στην μείωση της απόδοσης των φαρμάκων, καθώς θα αποβάλλονται γρηγορότερα από τον οργανισμό αλλά και στην ανάπτυξη αντίστασης σε πολλαπλά φάρμακα.

**Θετική αλληλεπίδραση**→ μπορούν να ενισχύσουν την θεραπευτική δράση των φαρμάκων, δίνοντας την δυνατότητα χορήγησης πολύ μικρότερης δόσης από την προκαθορισμένη και κατ' επέκταση μειώνοντας τις δυσμενείς επιδράσεις των αντικαρκινικών φαρμάκων. Η συνέργεια με τα φάρμακα αυτά απέδωσε αυξημένη δράση κατά της ογκογένεσης, μείωση του μεγέθους των ήδη υπάρχοντων όγκων και ελάχιστη τοξικότητα στα φυσιολογικά κύτταρα του οργανισμού. Ο μηχανισμός δράσης τους έχει να κάνει με τον μεταβολισμό των ξενοβιοτικών, όπως είναι και τα φάρμακα στην περίπτωση αυτή.

Επίσης, πολλές φορές απαιτείται η παρουσία των ενζύμων της φάσης 2 για την μετατροπή της αρχικής μορφής του φαρμάκου στη ενεργή του μορφή.<sup>105</sup>

Ο συνδυασμός ITC και συγκεκριμένα SFN με σελήνιο παρουσίασε πιο υψηλή αντικαρκινική δράση απ' ό τι με την λήψη των ουσιών χωριστά.

Σε *in vitro* έρευνες τα ITCs έδειξαν ότι μπορούν να ενισχύσουν την ευαισθησία των κυττάρων καρκινικών όγκων στα κυτταροστατικά φάρμακα. Παρακάτω στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται μερικά φάρμακα και ουσίες, καθώς και τα ισοθειοκυανικά με τα οποία παρουσιάζουν συνέργεια:

Πίνακας 3. Διάφορες ουσίες που επιδρούν με ισοθειοκυανικές ενώσεις<sup>105</sup>

Φάρμακα ή ουσίες που χορηγούνται έναντι του καρκίνου	Ισοθειοκυανικά με τα οποία αλληλεπιδρούν
Arsenic trioxide (Arsenic, ATO)	SFN Erysolin Erucin
Selenium	Glucoraphanin(GRA) SFN
Bortezomib	SFN PEITC
Lenalidomide	SFN PEITC
Cisplatin	SFN PEITC BITC AITC
Oxaliplatin	SFN
Gemcitabine	SFN
Doxorubicin (DOX)	SFN PEITC
5-fluorouracil (5-FU)	SFN

Paclitaxel	SFN
Docetaxel	SFN
4-hydroxytamoxifen	SFN Erucin
Temozolomide	SFN

## **Κεφάλαιο 9 : Ασφάλεια κατανάλωσης**

### **9.1 Ασφάλεια κατανάλωσης σταυρανθών λαχανικών**

#### **9.1.1 Γενοτοξικότητα**

Στην πλειονότητα των μελετών, οι οποίες ερευνούσαν την φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική των γλυκοσινολικών στον ανθρώπινο οργανισμό, δεν παρουσίασαν δεδομένα που να υποδεικνύουν τοξικότητα. Παρ' όλα αυτά, τα γλυκοσινολικά και τα προϊόντα διάσπασης τους από μόνα τους μπορούν να εμφανίσουν και **γενοτοξική δράση**.<sup>47</sup>

#### **9.1.2 Βρογχοκηλογόνες ουσίες**

Ένα από τα προϊόντα διάσπασης των γλυκοσινολικών, οι οξαζολιδίνες-2-θειόνες και συγκεκριμένα η goitrin (5-vinyloxazolidine-2-thione), εντάσσεται στις βρογχοκηλογόνες ουσίες. Διαταράσσει την λειτουργία

του θυρεοειδούς αδένου, καθώς συνδέεται με τα μόρια του ιωδίου και παρεμποδίζει την έκκριση θυροξίνης.<sup>35</sup>

### **9.1.3 Τοξικότητα στο καρδιαγγειακό**

Σε υψηλές συγκεντρώσεις ερουκικού οξέος (erucic acid), το οποίο βρίσκεται στο έλαιο από brassica rapeseed, προκύπτει καρδιαγγειακή τοξικότητα. Παρ' όλα αυτά σε μικρές συγκεντρώσεις θεωρείται ασφαλές.<sup>35</sup>

### **9.1.4 Βλάβες σε συκώτι και νεφρούς**

Σε αρκετά σπάνιες περιπτώσεις, έχει βρεθεί ότι τα νιτρίλια μπορούν να προκαλέσουν βλάβες σε συκώτι και νεφρούς και να οδηγήσουν σε καταστολή της ανάπτυξης.<sup>35</sup>

## **9.2 Ασφάλεια κατανάλωσης ισοθιοκυανικών**

### **9.2.1 Ισοθιοκυανικά Αλλύλιο και Φαινύλιο (ΑΙΤC , ΡΕΙΤC)**

Παρουσιάστηκε ήπια τερατογόνος δράση σε έμβρυα βατράχων μετά από χορήγηση allyl ισοθιοκυανικού. Οι δυσπλασίες που εμφανίστηκαν ήταν φουσκάλες, οίδημα και απορρύθμιση του εντέρου.<sup>106</sup>

Τα ισοθιοκυανικά ΑΙΤC και ΡΕΙΤC εμφάνισαν γενετοξική και πιθανή καρκινογόνο δράση.<sup>107</sup>

### **9.2.2 Ισοθειοκυανικό Μοριγκίνη (MGN)**

Δεν παρουσιάστηκαν δυσμενής τοξικές επιδράσεις, ούτε ύπαρξη βλάβης στα ζωτικά όργανα σε πειραματόζωα ακόμη και μετά από χορήγηση υψηλών δόσεων MGN της τάξεως των 2000 mg/ ανά κιλό σωματικού βάρους.<sup>108</sup>

### **9.2.3 Ισοθειοκυανικό Βενζύλιο (BITC)**

Σε έρευνα χορηγήθηκε εκχύλισμα από σπόρους του φυτού *Moringa* , εμπλουτισμένο με BITC σε πειραματόζωα για 14 ημέρες. Δημιουργήθηκαν 4 ομάδες πειραματόζωων, στις οποίες χορηγήθηκαν διαφορετικές δόσεις του εκχυλίσματος [78 (χαμηλή), 257 (μεσαία προς χαμηλή), 772 (μεσαία προς υψηλή), και 2571 (υψηλή) mg/kg bw/d] για να ανιχνευθούν πιθανές τοξικές επιδράσεις. Πράγματι, στην ομάδα που χορηγήθηκε η υψηλή δόση, παρατηρήθηκε γαστρεντερική διάταση και αποχρωματισμός του στομάχου στα πειραματόζωα , τα οποία μάλιστα δεν επιβίωσαν. Επίσης παρατηρήθηκε εκφυλισμός και νέκρωση των βλαστικών κυττάρων στους όρχεις ενός αρσενικού , το οποίο και απεβίωσε. Στις ομάδες μεσαίας προς υψηλής και υψηλής δόσης, εμφανίστηκε αύξηση του βάρους του συκωτιού σε θηλυκά, ενώ στις ομάδες χαμηλής και μεσαίας προς χαμηλής δόσης δεν παρουσιάστηκαν δυσμενείς τοξικές επιδράσεις. Τελικά, οι ερευνητές κατέληξαν στην δόση 257 mg/kg bw/d εκχυλίσματος των σπόρων *moringa* , με την οποία δεν εμφανίστηκαν καθόλου τοξικές επιδράσεις και παρείχε 100mg/kg bw/d BITC.<sup>109</sup>



#### **9.2.4 4-methylthio-3-butenyl ισοθειοκυανικό (MTBITC)**

Παρατηρήθηκε αύξηση στο βάρος των οργάνων και ιστοπαθολογικές αλλαγές στην ουροδόχο κύστη πειραματόζων μετά από χορήγηση 1000ppm 4-methylthio-3-butenyl ισοθειοκυανικού (MTBITC). Παρόμοιες βλάβες προέκυψαν μετά και από χορήγηση 1000ppm PEITC. Σε δόσεις 100 και 300 ppm MTBITC δεν εμφανίστηκε τοξικότητα.<sup>110</sup>

#### **9.2.5 *In vivo* και *in vitro* πειράματα γενετοξικότητας**

Σε τεστ γενετοξικότητας των ισοθειοκυανικών AITC, PEITC,<sup>107</sup> BITC,<sup>111</sup> MITC,<sup>112</sup> βρέθηκε διαφοροποίηση στα αποτελέσματα του μεγέθους της τοξικότητας όταν η μελέτη πραγματοποιήθηκε *in vitro* , από όταν διεξήχθη *in vivo*. *In vitro*, με χρήση *Escherichia coli*, παρουσιάστηκε έντονη γενετοξικότητα ακόμη και σε μικρές δόσεις ( $\leq 5\text{mg/ml}$  BITC). Από την άλλη, *in vivo* παρουσιάστηκε ήπια γενετοξικότητα ακόμη και σε πολύ υψηλές δόσεις ( 90-270 mg/kg BITC, 90mg/kg MITC ). Ο λόγος που *in vivo* παρατηρούμε πιο ήπιες τοξικές επιδράσεις συγκριτικά με τους ελέγχους που έχουν γίνει *in vitro*, έγκειται στην επίδραση κάποιων παραγόντων που συναντούμε στα πειραματόζωα αλλά και σε ανθρώπους. Ειδικότερα, η ελαχιστοποίηση των γενετοξικών επιδράσεων οφείλεται σε διάφορα σωματικά υγρά όπως το σάλιο και το γαστρικό υγρό , αλλά και στη σύνδεση των ισοθειοκυανικών με κάποιες πρωτεΐνες του οργανισμού (χωρίς την παρουσία ενζύμου) ή και με άλλα μακρομόρια, αδρανοποιώντας μερικώς τα ισοθειοκυανικά. <sup>107,111,112</sup>

Επιπλέον, οι δραστικές ρίζες οξυγόνου φαίνεται να αποτελούν σημαντική παράμετρο στον μηχανισμό δημιουργίας των γενετοξικών επιδράσεων των ITCs. Τα ITCs παράγουν ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ [thiobarbituric acid-reactive substances

(TBARS)] στα κύτταρα HepG2 (καρκινικά κύτταρα του ήπατος).<sup>107,111,112</sup>

Παρ' όλα αυτά, οι δόσεις που χορηγούνται στα πειραματόζωα στο εργαστήριο που οδηγούν σε τοξικότητα, ξεπερνούν τις δόσεις που μπορεί να καταναλώσει κάποιος μέσω της διατροφής, αλλά παρόμοιες δόσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για να επιτευχθεί αντικαρκινική προστασία.<sup>111</sup>

### **9.2.6 Σουλφοραφάνη (SFN)**

Σε έρευνα βρέθηκε πως το LD50 (median lethal dose) sulforaphane στα ποντίκια ήταν περίπου 212.67 mg/kg, ενώ το TD50 (median toxic dose) περίπου 191.58 mg/kg.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν μετά από έλεγχο της τοξικότητας της σουλφοραφάνης ήταν τα εξής :

- 150-300 mg/kg → έντονη καταστολή και υποθερμία
- 200 mg /kg → λευκοπενία
- 200-300 mg/kg → μειωμένος συντονισμός κινήσεων και θάνατοι
- 250-300 mg/kg → μειωμένη δύναμη των σκελετικών μυών

Ενώ σε γενικά πλαίσια θεωρήθηκε σπασμολυτικό σε τοξικές δόσεις.<sup>113</sup>

Συμπερασματικά, οι δόσεις που χρησιμοποιήθηκαν στις έρευνες και παρουσίασαν τοξικότητα θεωρούνται υψηλές και δύσκολα επιτυγχάνονται μέσω της διατροφής. Εξαιρέση αποτελεί η κατανάλωση διατροφικών συμπληρωμάτων που μπορεί να περιέχουν υψηλές δόσεις ITC και να οδηγήσουν σε πιθανές δυσμενείς επιδράσεις. Γι' αυτό υφίσταται η προσοχή από τους καταναλωτές. Επίσης, οι υψηλές δόσεις ITCs δοκιμάζονται σε πειραματόζωα και δεν μπορούμε να γνωρίζουμε τις ακριβείς συνέπειες εάν καταναλωθούν από άνθρωπο.

## Συμπεράσματα

---

Πλήθος ερευνών αποδεικνύουν τις αντικαρκινικές, αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες των ITCs, με ρεαλιστικές και εφικτές ποσότητες κατανάλωσης, που μπορούν να απορροφηθούν από τον ανθρώπινο οργανισμό. Η διερεύνηση τρόπων επίτευξης της μέγιστης δυνατής βιοδιαθεσιμότητας των ITCs, μας βοηθάει να μπορέσουμε να αξιοποιήσουμε πλήρως τις δυνατότητες που μας προσδίδουν. Λειτουργούν με διάφορους μηχανισμούς, χρησιμοποιώντας διάφορες μεταβολικές οδούς και σηματοδοτικά μονοπάτια του οργανισμού.

Παρ' όλα αυτά υπάρχουν κάποιες αντενδείξεις. Ενώ μπορούν να δράσουν συνεργικά με διάφορες φαρμακευτικές ουσίες, σε κάποιες άλλες περιπτώσεις μπορεί να υποβαθμίσουν την δράση και απόδοση των φαρμάκων. Ορισμένοι ξενοβιώτες «καταπατούν» και εκμεταλλεύονται τις οδούς που χρησιμοποιούν τα ITCs, προς δικό τους όφελος, για την επιβίωση και ανάπτυξή τους. Αυτή η κατάσταση δυσχεραίνει την καταπολέμηση και απομάκρυνση τους από τον οργανισμό, εφόσον πλέον έχουν αναπτύξει μεγαλύτερη ανθεκτικότητα.

Κατά βάση, προστατεύουν τον οργανισμό από διάφορα απειλητικά για την υγεία ξενοβιοτικά, τα οποία προέρχονται από το περιβάλλον στο οποίο ζει ο άνθρωπος, αλλά προκύπτουν και από έναν μη ισορροπημένο και υγιεινό τρόπο ζωής. Γι' αυτό το λόγο, θα πρέπει αναμφισβήτητα να ληφθεί υπόψιν η κατανάλωση των σταυρανθών λαχανικών, στα πλαίσια της συνιστώμενης κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών. Παρ' όλα αυτά, θα πρέπει να αναλυθεί εκτενέστερα η ασφάλεια κατανάλωσης τους και να συνηγορηθούν οι αντενδείξεις που έχουν έρθει στο φως από διάφορες έρευνες, προκειμένου να βρεθεί ισορροπία μεταξύ της

πιθανής τοξικότητας και της προστασίας που αποδίδουν στον οργανισμό, ώστε τελικά να δοθούν πιο εξειδικευμένες οδηγίες για τους καταναλωτές

Η ύπαρξη ισορροπίας είναι απαραίτητη σε κάθε πτυχή της ζωής, έτσι και στην διατροφή. Η διατροφή μπορεί να χαρακτηριστεί ως θεραπευτική με την κατάλληλη καθοδήγηση, παρ' όλα αυτά το φάρμακο διαφοροποιείται από το φαρμάκι στη δόση όπως είπε και ο Παράκελσος (1493-1541 μ.Χ).

Επιπλέον, μια πρόταση για μελλοντικές μελέτες θα ήταν να κατευθυνθούν προς την εύρεση σκευασμάτων που να εμπεριέχουν αυτές τις ενώσεις, ενώ παράλληλα να επιτυγχάνεται η σταθερότητα τους, ώστε να μπορούν να αποδώσουν τα οφέλη τους στους καταναλωτές. Ακόμη, είναι απαραίτητη η περαιτέρω μελέτη και διερεύνηση της απελευθέρωσης των μέγιστων ποσοτήτων ITCs. Από την μία μεριά οι υπάρχουσες έρευνες γνωστοποιούν την απελευθέρωση των μέγιστων ποσοτήτων όταν τα ITCs προκύπτουν από υδρόλυση των GLS μέσω μυροσινάσης, ενώ όταν η υδρόλυση πραγματοποιείται από το εντερικό μικροβίωμα παρατηρούνται κατά πολύ μικρότερες ποσότητες ITCs. Από την άλλη, η δημιουργία των ενώσεων αυτών ευνοείται από το βασικό pH, το οποίο και παρατηρείται στον εντερικό αυλό, σε αντίθεση με το στόμα και το στομάχι, όπου συνήθως δρα η μυροσινάση. Υπάρχουν λοιπόν ορισμένα σημεία, τα οποία χρειάζονται επιπρόσθετη έρευνα για να κατανοήσουμε πλήρως την δράση αυτών των ενώσεων, αλλά και τις αξιοποιήσουμε με ποιο αποδοτικό τρόπο.

## Βιβλιογραφία

---

1. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases.](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases)  
[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases.](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases)
2. Anubhuti, S., Ashok, S., Prashant, Y. & Dhiraj, S. Isothiocyanates in Brassica: Potential Anti Cancer Agents. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* **17**, 4507–4510 (2016).
3. Jaafaru, M. S. *et al.* Protective effect of glucosinolates hydrolytic products in neurodegenerative diseases (NDDs). *Nutrients* vol. 10 (2018).
4. Novío, S., Cartea, M. E., Soengas, P., Freire-Garabal, M. & Núñez-Iglesias, M. J. Effects of Brassicaceae isothiocyanates on prostate cancer. *Molecules* vol. 21 (2016).
5. Dinkova-Kostova, A. T. & Kostov, R. V. Glucosinolates and isothiocyanates in health and disease. *Trends in Molecular Medicine* vol. 18 337–347 (2012).
6. Fahey, J. W. *et al.* The Diversity of Chemoprotective Glucosinolates in Moringaceae (*Moringa* spp.). *Sci. Rep.* **8**, (2018).
7. Angelino, D. & Jeffery, E. Glucosinolate hydrolysis and bioavailability of resulting isothiocyanates: Focus on glucoraphanin. *J. Funct. Foods* **7**, 67–76 (2014).
8. Barba, F. J. *et al.* Bioavailability of Glucosinolates and Their Breakdown Products: Impact of Processing. *Front. Nutr.* **3**, 1–12 (2016).
9. Prieto, M. A., López, C. J. & Simal-Gandara, J. Glucosinolates: Molecular structure, breakdown, genetic, bioavailability,

- properties and healthy and adverse effects. in *Advances in Food and Nutrition Research* vol. 90 305–350 (Academic Press Inc., 2019).
10. Agerbirk, N. & Olsen, C. E. Glucosinolate structures in evolution. (2012) doi:10.1016/j.phytochem.2012.02.005.
  11. Vanduchova, A., Anzenbacher, P. & Anzenbacherova, E. Isothiocyanate from Broccoli, Sulforaphane, and Its Properties. *J. Med. Food* **22**, 121–126 (2019).
  12. Bheemreddy, R. M. & Jeffery, E. H. The metabolic fate of purified glucoraphanin in F344 rats. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 2861–2866 (2007).
  13. Oliviero, T., Verkerk, R. & Dekker, M. Isothiocyanates from Brassica Vegetables-Effects of Processing, Cooking, Mastication, and Digestion. (2018) doi:10.1002/mnfr.201701069.
  14. Cheng, D. L., Hashimoto, K. & Uda, Y. In vitro digestion of sinigrin and glucotropaeolin by single strains of Bifidobacterium and identification of the digestive products. *Food Chem. Toxicol.* **42**, 351–357 (2004).
  15. Verkerk, R. *et al.* Glucosinolates in Brassica vegetables: The influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Mol. Nutr. Food Res.* **53**, 219–265 (2009).
  16. Faulkner, K., Mithen, R. & Williamson, G. Selective increase of the potential anticarcinogen 4-methylsulphinylbutyl glucosinolate in broccoli. *Carcinogenesis* **19**, 605–609 (1998).
  17. Sarikamis, G. *et al.* High glucosinolate broccoli: a delivery system for sulforaphane. *Mol. Breed.* **18**, 219–228 (2006).
  18. Mithen, R. *et al.* Development of isothiocyanate-enriched broccoli, and its enhanced ability to induce phase 2 detoxification enzymes in mammalian cells. *Theor. Appl. Genet.* **106**, 727–734 (2003).

19. Rangkadilok, N. *et al.* Determination of sinigrin and glucoraphanin in Brassica species using a simple extraction method combined with ion-pair HPLC analysis. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. **96**, 27–41 (2002).
20. Vallejo, F., García-Viguera, C. & Tomás-Barberán, F. A. Changes in Broccoli (*Brassica oleracea* L. Var. *italica*) health-promoting compounds with inflorescence development. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 3776–3782 (2003).
21. Charron, C. S. & Sams, C. E. Glucosinolate content and myrosinase activity in rapid-cycling *Brassica oleracea* grown in a controlled environment. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* **129**, 321–330 (2004).
22. Krumbein, A., Schonhof, I., Rühlmann, J. & Widell, S. Influence of sulphur and nitrogen supply on flavour and health-affecting compounds in Brassicaceae. in *Plant Nutrition* 294–295 (Springer Netherlands, 2001). doi:10.1007/0-306-47624-x\_141.
23. Charron, C. S., Kopsell, D. A., Randle, W. M. & Sams, C. E. Sodium selenate fertilisation increases selenium accumulation and decreases glucosinolate concentration in rapid-cycling *Brassica oleracea*. *J. Sci. Food Agric.* **81**, 962–966 (2001).
24. Robbins, R. J., Keck, A. S., Banuelos, G. & Finley, J. W. Cultivation conditions and selenium fertilization alter the phenolic profile, glucosinolate, and sulforaphane content of broccoli. *J. Med. Food* **8**, 204–214 (2005).
25. Rodrigues, A. S. & Rosa, E. A. S. Effect of post-harvest treatments on the level of glucosinolates in broccoli. *J. Sci. Food Agric.* **79**, 1028–1032 (1999).
26. Verkerk, R., Dekker, M. & Jongen, W. M. F. Post-harvest increase of indolyl glucosinolates in response to chopping and storage of Brassica vegetables. in *Journal of the Science of Food and*

- Agriculture* vol. 81 953–958 (John Wiley & Sons, Ltd, 2001).
27. Zhang, Y., Wade, K. L., Prestera, T. & Talalay, P. Quantitative determination of isothiocyanates, dithiocarbamates, carbon disulfide, and related thiocarbonyl compounds by cyclocondensation with 1,2- benzenedithiol. *Anal. Biochem.* **239**, 160–167 (1996).
  28. Zhang, Y. The 1,2-Benzenedithiole-Based Cyclocondensation Assay: A Valuable Tool for the Measurement of Chemopreventive Isothiocyanates. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **52**, 525–532 (2012).
  29. Budnowski, J. *et al.* A derivatization method for the simultaneous detection of glucosinolates and isothiocyanates in biological samples. *Anal. Biochem.* **441**, 199–207 (2013).
  30. Franco, P. *et al.* Development of a liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry method for the simultaneous analysis of intact glucosinolates and isothiocyanates in Brassicaceae seeds and functional foods. *J. Chromatogr. A* **1428**, 154–161 (2016).
  31. Song, L., Morrison, J. J., Botting, N. P. & Thornalley, P. J. Analysis of glucosinolates, isothiocyanates, and amine degradation products in vegetable extracts and blood plasma by LC-MS/MS. *Anal. Biochem.* **347**, 234–243 (2005).
  32. Cwik, M. J., Wu, H., Muzzio, M., McCormick, D. L. & Kapetanovic, I. Direct quantitation of glucoraphanin in dog and rat plasma by LC-MS/MS. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **52**, 544–549 (2010).
  33. Gattu, S. *et al.* Advances in enzyme substrate analysis with capillary electrophoresis. *Methods* vol. 146 93–106 (2018).
  34. Gonda, S., Kiss-Szikszai, A., Szűcs, Z., Nguyen, N. M. & Vasas, G. Myrosinase Compatible Simultaneous Determination of Glucosinolates and Allyl Isothiocyanate by Capillary Electrophoresis Micellar Electrokinetic Chromatography (CE-



- MEKC). *Phytochem. Anal.* **27**, 191–198 (2016).
35. Crews, C. & Clarke, D. *Natural Toxicants: Naturally Occurring Toxins of Plant Origin. Encyclopedia of Food Safety* vol. 2 (Elsevier Ltd., 2014).
  36. Barba, F. J. & Orlien, V. Processing, bioaccessibility and bioavailability of bioactive sulfur compounds: Facts and gaps. *Journal of Food Composition and Analysis* vol. 61 1–3 (2017).
  37. Fahey, J. W., Zalcmann, A. T. & Talalay, P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* vol. 56 5–51 (2001).
  38. Kołodziejcki, D. *et al.* Relationship between conversion rate of glucosinolates to isothiocyanates/indoles and genotoxicity of individual parts of Brassica vegetables. *Eur. Food Res. Technol.* **245**, 383–400 (2019).
  39. Getahun, S. M. & Chung, F.-L. Conversion of Glucosinolates to Isothiocyanates in Humans after Ingestion of Cooked Watercress. *Cancer Epidemiol. Prev. Biomarkers* **8**, (1999).
  40. Conaway, C. C. *et al.* *Disposition of Glucosinolates and Sulforaphane in Humans After Ingestion of Steamed and Fresh Broccoli.* (2000).
  41. Shapiro, T. A., Fahey, J. W., Wade, K. L., Stephenson, K. K. & Talalay, P. Chemoprotective Glucosinolates and Isothiocyanates of Broccoli Sprouts. *Cancer Epidemiol. Prev. Biomarkers* **10**, (2001).
  42. Conaway, C. C., Jiao, D., Kohri, T., Liebes, L. & Chung, F.-L. Disposition and Pharmacokinetics of Phenethyl Isothiocyanate and 6-Phenylhexyl Isothiocyanate in F344 Rats. *Drug Metab. Dispos.* **27**, (1999).
  43. Cramer, J. M. & Jeffery, E. H. Sulforaphane absorption and

- excretion following ingestion of a semi-purified broccoli powder rich in glucoraphanin and broccoli sprouts in healthy men. *Nutr. Cancer* **63**, 196–201 (2011).
44. Hanschen, F. S., Kühn, C., Nickel, M., Rohn, S. & Dekker, M. Leaching and degradation kinetics of glucosinolates during boiling of *Brassica oleracea* vegetables and the formation of their breakdown products. *Food Chem.* **263**, 240–250 (2018).
  45. Zhong, X. *et al.* Effect of microwave steamable bag design on the preservation of ascorbic acid and antioxidant capacity and on the physical properties of cooked frozen vegetables: A case study on broccoli (*Brassica oleracea*). *LWT - Food Sci. Technol.* **83**, 165–171 (2017).
  46. Cai, Y. X., Augustin, M. A., Jegasothy, H., Wang, J. H. & Terefe, N. S. Mild heat combined with lactic acid fermentation: A novel approach for enhancing sulforaphane yield in broccoli puree. in *Food and Function* vol. 11 779–786 (Royal Society of Chemistry, 2020).
  47. Kapusta-Duch, J., Kusznierevicz, B., Leszczyńska, T. & Borczak, B. Effect of cooking on the contents of glucosinolates and their degradation products in selected *Brassica* vegetables. *J. Funct. Foods* **23**, 412–422 (2016).
  48. Rani, V. & Singh Yadav, U. C. *Free radicals in human health and disease. Free Radicals in Human Health and Disease* (2015). doi:10.1007/978-81-322-2035-0.
  49. Dunaway, S. *et al.* Natural antioxidants: Multiple mechanisms to protect skin from solar radiation. *Front. Pharmacol.* **9**, (2018).
  50. Gupta, P., Kim, B., Kim, S. H. & Srivastava, S. K. Molecular targets of isothiocyanates in cancer: Recent advances. *Mol. Nutr. Food Res.* **58**, 1685–1707 (2014).
  51. Tong, L., Chuang, C. C., Wu, S. & Zuo, L. Reactive oxygen species

- in redox cancer therapy. *Cancer Letters* vol. 367 18–25 (2015).
52. Abdull Razis, A. F., Konsue, N. & Ioannides, C. Isothiocyanates and Xenobiotic Detoxification. *Mol. Nutr. Food Res.* **62**, 1–35 (2018).
  53. Chartoumpakis, D. ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ - ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΙΣ ΚΛΙΝΙΚΕΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΕΣ ΓΝΩΣΤΙΚΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ: ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟΥ ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΚΟ ΤΜΗΜΑ « ΜΕΛΕΤΗ Τ. (2010).
  54. Houghton, C. A. Sulforaphane: Its 'Coming of Age' as a Clinically Relevant Nutraceutical in the Prevention and Treatment of Chronic Disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2019**, (2019).
  55. Dinkova-Kostova, A. T., Fahey, J. W., Kostov, R. V. & Kensler, T. W. KEAP1 and done? Targeting the NRF2 pathway with sulforaphane. *Trends in Food Science and Technology* vol. 69 257–269 (2017).
  56. Brunelli, D. *et al.* The isothiocyanate produced from glucomoringin inhibits NF-κB and reduces myeloma growth in nude mice in vivo. *Biochem. Pharmacol.* **79**, 1141–1148 (2010).
  57. Hamsa, T. P., Thejass, P. & Kuttan, G. Induction of apoptosis by sulforaphane in highly metastatic B16F-10 melanoma cells. *Drug Chem. Toxicol.* **34**, 332–340 (2011).
  58. López-Chillón, M. T. *et al.* Effects of long-term consumption of broccoli sprouts on inflammatory markers in overweight subjects. *Clin. Nutr.* **38**, 745–752 (2019).
  59. Dey, M. *et al.* Dietary phenethylisothiocyanate attenuates bowel inflammation in mice. (2010).
  60. Subedi, L., Cho, K. H., Park, Y. U., Choi, H. J. & Kim, S. Y.

- Sulforaphane-Enriched Broccoli Sprouts Pretreated by Pulsed Electric Fields Reduces Neuroinflammation and Ameliorates Scopolamine-Induced Amnesia in Mouse Brain through Its Antioxidant Ability via Nrf2-HO-1 Activation. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2019**, 3549274 (2019).
61. Dufour, V., Stahl, M. & Baysse, C. The antibacterial properties of isothiocyanates. *Microbiology (United Kingdom)* vol. 161 229–243 (2015).
  62. Saavedra, M. *et al.* Antimicrobial Activity of Phenolics and Glucosinolate Hydrolysis Products and their Synergy with Streptomycin against Pathogenic Bacteria. *Med. Chem. (Los Angeles)*. **6**, 174–183 (2012).
  63. TAJIMA, H., KIMOTO, H. & TAKETO, A. Paradoxical Effect of Synthetic Hydroxy Isothiocyanates on Antimicrobial Action of Aminoglycosides. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 1844–1846 (2003).
  64. Jaiswal, A. K., Rajauria, G., Abu-Ghannam, N. & Gupta, S. Phenolic composition, antioxidant capacity and antibacterial activity of selected Irish Brassica vegetables. *Nat. Prod. Commun.* **6**, 1299–1304 (2011).
  65. Dias, C., Aires, A., N. Bennett, R., A. S. Rosa, E. & J. Saavedra, M. First Study on Antimicrobial Activity and Synergy between Isothiocyanates and Antibiotics Against Selected Gram-Negative And Gram-Positive Pathogenic Bacteria From Clinical And Animal Source. *Med. Chem. (Los Angeles)*. **8**, 474–480 (2012).
  66. Aires, A. *et al.* Initial in vitro evaluations of the antibacterial activities of glucosinolate enzymatic hydrolysis products against plant pathogenic bacteria. *J. Appl. Microbiol.* **106**, 2096–2105 (2009).
  67. Abreu, A., Borges, A., Simoes, L., Saavedra, M. & Simoes, M.

- Antibacterial Activity of Phenyl Isothiocyanate on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. *Med. Chem. (Los. Angeles)*. **9**, 756–761 (2013).
68. Borges, A. *et al.* Antibacterial activity and mode of action of selected glucosinolate hydrolysis products against bacterial pathogens. *J. Food Sci. Technol.* **52**, 4737–4748 (2015).
  69. Nowicki, D., Maciąg-Dorszyńska, M., Bogucka, K., Szalewska-Pałasz, A. & Herman-Antosiewicz, A. Various modes of action of dietary phytochemicals, sulforaphane and phenethyl isothiocyanate, on pathogenic bacteria. *Sci. Rep.* **9**, (2019).
  70. Mitsiogianni, M. *et al.* From chemo-prevention to epigenetic regulation: The role of isothiocyanates in skin cancer prevention. (2018) doi:10.1016/j.pharmthera.2018.06.001.
  71. Soundararajan, P. & Kim, J. S. Anti-carcinogenic glucosinolates in cruciferous vegetables and their antagonistic effects on prevention of cancers. *Molecules* vol. 23 (2018).
  72. Zhang, Q. C. *et al.* Benzyl isothiocyanate induces protective autophagy in human lung cancer cells through an endoplasmic reticulum stress-mediated mechanism. *Acta Pharmacol. Sin.* **38**, 539–550 (2017).
  73. Jiang, L. L., Zhou, S. J., Zhang, X. M., Chen, H. Q. & Liu, W. Sulforaphane suppresses in vitro and in vivo lung tumorigenesis through downregulation of HDAC activity. *Biomed. Pharmacother.* **78**, 74–80 (2016).
  74. Pledge-Tracy, A., Sobolewski, M. D. & Davidson, N. E. Sulforaphane induces cell type-specific apoptosis in human breast cancer cell lines. *Mol. Cancer Ther.* **6**, 1013–1021 (2007).
  75. Axelsson, A. S. *et al.* Sulforaphane reduces hepatic glucose production and improves glucose control in patients with type 2 diabetes. 1–13 (2017).

76. Bahadoran, Z. *et al.* Effect of broccoli sprouts on insulin resistance in type 2 diabetic patients: a randomized double-blind clinical trial. **63**, 767–771 (2012).
77. Bahadoran, Z. *et al.* Broccoli sprouts powder could improve serum triglyceride and oxidized LDL / LDL-cholesterol ratio in type 2 diabetic patients: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **96**, 348–354 (2012).
78. Giacoppo, S. *et al.* An overview on neuroprotective effects of isothiocyanates for the treatment of neurodegenerative diseases. *Fitoterapia* vol. 106 12–21 (2015).
79. Klomparens, E. & Ding, Y. The neuroprotective mechanisms and effects of sulforaphane. *Brain Circ.* **5**, 74 (2019).
80. Zhang, F. Sulforaphane Protects against Brain Diseases: Roles of Cytoprotective Enzymes. *Austin J. Cerebrovasc. Dis. Stroke* **4**, (2017).
81. Huang, C. *et al.* Effects of sulforaphane in the central nervous system. *European Journal of Pharmacology* vol. 853 153–168 (2019).
82. Alyoussef, A. & Taha, M. Antitumor activity of sulforaphane in mice model of skin cancer via blocking sulfatase-2. *Exp. Dermatol.* **28**, 28–34 (2019).
83. Su, Z. Y. *et al.* Requirement and epigenetics reprogramming of Nrf2 in suppression of tumor promoter TPA-induced mouse skin cell transformation by sulforaphane. *Cancer Prev. Res.* **7**, 319–329 (2014).
84. Kleszczyński, K. *et al.* Sulforaphane and phenylethyl isothiocyanate protect human skin against UVR-induced oxidative stress and apoptosis: Role of Nrf2-dependent gene expression and antioxidant enzymes. *Pharmacol. Res.* **78**, 28–40 (2013).

85. Murali, M. R., Naveen, S. V., Son, C. G. & Raghavendran, H. R. B. Current knowledge on alleviating *Helicobacter pylori* infections through the use of some commonly known natural products: bench to bedside. *Integr. Med. Res.* **3**, 111–118 (2014).
86. Haristoy, X., Fahey, J. W., Scholtus, I. & Lozniewski, A. Evaluation of the Antimicrobial Effects of Several Isothiocyanates on *Helicobacter pylori*. (2005) doi:10.1055/s-2005-864098.
87. Fahey, J. W. *et al.* Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**, 7610–7615 (2002).
88. Yanaka, A. Role of Sulforaphane in Protection of Gastrointestinal Tract Against *H. pylori* and NSAID-Induced Oxidative Stress. *Curr. Pharm. Des.* **23**, (2017).
89. Yanaka, A. *et al.* Dietary sulforaphane-rich broccoli sprouts reduce colonization and attenuate gastritis in *Helicobacter pylori*-infected mice and humans. *Cancer Prev. Res.* **2**, 353–360 (2009).
90. Aziz, M. & Karboune, S. Natural antimicrobial/antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **58**, 486–511 (2018).
91. Romeo, L., Iori, R., Rollin, P., Bramanti, P. & Mazzon, E. Isothiocyanates: An overview of their antimicrobial activity against human infections. *Molecules* vol. 23 (2018).
92. Jang, M., Hong, E. & Kim, G. H. Evaluation of antibacterial activity of 3-butenyl, 4-pentenyl, 2-phenylethyl, and benzyl isothiocyanate in Brassica vegetables. *J. Food Sci.* **75**, 412–416 (2010).
93. Araújo, M. K., Gumiela, A. M., Bordin, K., Luciano, F. B. & Macedo, R. E. F. de. Combination of garlic essential oil, allyl isothiocyanate, and nisin Z as bio-preservatives in fresh sausage. *Meat Sci.* **143**,

- 177–183 (2018).
94. Pérez-Díaz, I. M. & McFeeters, R. F. Preservation of acidified cucumbers with a natural preservative combination of fumaric acid and allyl isothiocyanate that target lactic acid bacteria and yeasts. *J. Food Sci.* **75**, (2010).
  95. Bahmid, N. A., Pepping, L., Dekker, M., Fogliano, V. & Heising, J. Using particle size and fat content to control the release of Allyl isothiocyanate from ground mustard seeds for its application in antimicrobial packaging. *Food Chem.* **308**, (2020).
  96. Shi, C. H. *et al.* Control of *Bradysia odoriphaga* (Diptera: Sciaridae) With Allyl Isothiocyanate Under Field and Greenhouse Conditions. *J. Econ. Entomol.* **110**, 1127–1132 (2017).
  97. Nazareth, T. M. *et al.* Evaluation of gaseous allyl isothiocyanate against the growth of mycotoxigenic fungi and mycotoxin production in corn stored for 6 months. *J. Sci. Food Agric.* **98**, 5235–5241 (2018).
  98. Lopes, L. F. *et al.* Fumigation of Brazil nuts with allyl isothiocyanate to inhibit the growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production. *J. Sci. Food Agric.* **98**, 792–798 (2018).
  99. Fang, W. *et al.* Environmental Factors and Soil Amendment Affect the Decomposition Rate of Dazomet Fumigant. *J. Environ. Qual.* **47**, 1223–1231 (2018).
  100. Liu, J. *et al.* Soil properties, presence of microorganisms, application dose, soil moisture and temperature influence the degradation rate of Allyl isothiocyanate in soil. *Chemosphere* **244**, (2020).
  101. Itoh, H., Tago, K., Hayatsu, M. & Kikuchi, Y. Detoxifying symbiosis: Microbe-mediated detoxification of phytotoxins and pesticides in insects. *Natural Product Reports* vol. 35 434–454 (2018).



102. Dourson, M. L., Kohrman-Vincent, M. J. & Allen, B. C. Dose response assessment for effects of acute exposure to methyl isothiocyanate (MITC). *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **58**, 181–188 (2010).
103. O'Malley, M., Barry, T., Verder-Carlos, M. & Rubin, A. Modeling of methyl isothiocyanate air concentrations associated with community illnesses following a metam-sodium sprinkler application. *Am. J. Ind. Med.* **46**, 1–15 (2004).
104. Simpson, C. R., Nelson, S. D., Stratmann, J. E. & Ajwa, H. A. Surface water seal application to minimize volatilization loss of methyl isothiocyanate from soil columns. *Pest Manag. Sci.* **66**, 686–692 (2010).
105. Mielczarek, L., Chilmonczyk, Z., Suchocki, P., Wroczy-ski, P. & Wiktorska, K. Combinations of isothiocyanates with drugs - A chance or threat to chemoprevention and cancer treatment? *Acta Pol. Pharm. - Drug Res.* **75**, 829–841 (2018).
106. Williams, J. R., Rayburn, J. R., Cline, G. R., Sauterer, R. & Friedman, M. Effect of allyl isothiocyanate on developmental toxicity in exposed *Xenopus laevis* embryos. *Toxicol. Reports* **2**, 222–227 (2015).
107. Kassie, F. & Knasmüller, S. Genotoxic effects of allyl isothiocyanate (AITC) and phenethyl isothiocyanate (PEITC). *Chem. Biol. Interact.* **127**, 163–180 (2000).
108. Jaafaru, M. S. *et al.* Nontoxic glucomoringin-isothiocyanate (GMG-ITC) rich soluble extract induces apoptosis and inhibits proliferation of human prostate adenocarcinoma cells (PC-3). *Nutrients* **10**, (2018).
109. Kim, Y., Jaja-Chimedza, A., Merrill, D., Mendes, O. & Raskin, I. A 14-day repeated-dose oral toxicological evaluation of an isothiocyanate-enriched hydro-alcoholic extract from *Moringa*

- oleifera Lam. seeds in rats. *Toxicol. Reports* **5**, 418–426 (2018).
110. Suzuki, I. *et al.* Toxic effects of 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate (Raphasatin) in the rat urinary bladder without genotoxicity. *J. Appl. Toxicol.* **37**, 485–494 (2017).
111. Kassie, F., Pool-Zobel, B., Parzefall, W. & Knasmüller, S. Genotoxic effects of benzyl isothiocyanate, a natural chemopreventive agent. *Mutagenesis* **14**, 595–603 (1999).
112. Kassie, F., Laky, B., Nobis, E., Kundi, M. & Knasmüller, S. Genotoxic effects of methyl isothiocyanate. *Mutat. Res. - Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* **490**, 1–9 (2001).
113. Socała, K., Nieoczym, D., Kowalczyk-Vasilev, E., Wyska, E. & Wlaź, P. Increased seizure susceptibility and other toxicity symptoms following acute sulforaphane treatment in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **326**, 43–53 (2017).